

TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Endocrinologia

Viagem ao Mundo da Leptina: da regulação da homeostase energética à resistência à leptina

Joaquim José Oliveira de Sá Couto

TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Endocrinologia

Viagem ao Mundo da Leptina: da regulação da homeostase energética à resistência à leptina

Joaquim José Oliveira de Sá Couto

Orientado por:

Dr. Dinis Reis

RESUMO

A leptina é uma hormona conhecida por ser a “hormona da saciedade”. No entanto, ela é mais do que isso: é não só responsável pela regulação da homeostase energética, nomeadamente através da diminuição da ingestão calórica, mas também por estimular o gasto energético.

Esta hormona é, por isso, de extrema importância no contexto da obesidade. A obesidade foi muitas vezes apelidada como a pandemia do século XXI, sendo, por isso, um tema que não deve ser colocado em segundo plano, quando se discutem a fundo os maiores problemas de saúde a nível mundial.

Dito isto, esse estado de excesso de massa gorda corporal deveria ser, potencialmente, revertido pela acção da leptina. No entanto, aquilo que se verifica, na esmagadora maioria dos casos, é que os indivíduos obesos, ao longo do tempo, não tendem a apresentar uma evolução favorável no que toca à sua composição corporal; agravando ainda o seu risco cardiovascular e outras possíveis comorbilidades, dadas as disfunções metabólicas inerentes à própria obesidade.

Assim, a que se deverá a pobre ou ineficiente actuação da leptina nestes indivíduos obesos? Foi na tentativa de responder a esta interrogação que surgiu o conceito de resistência à leptina. Está, portanto, lançado, na comunidade científica, o desafio pela busca da causa desta resistência, o que, em última instância, visa a descoberta de uma terapêutica farmacológica para a obesidade.

A par destas funções exercidas no metabolismo energético, a leptina desempenha uma miríade de outros papéis noutros sistemas metabólicos, que são de extremo interesse para compreender melhor os mecanismos de outras patologias.

Desta forma, esta revisão aborda os principais aspectos da leptina, designadamente a sua acção, a sua função, o desenvolvimento da resistência à leptina com possíveis alvos farmacológicos associados, bem como a interacção da leptina com outros eixos endócrinos e algumas patologias.

Palavras-chave: Leptina; Obesidade; Homeostase Energética; Resistência à Leptina; Interação com Outros Eixos Endócrinos.

ABSTRACT

Leptin is a hormone called “the satiety hormone”. However, it is more than that: it is not only responsible for regulating energy homeostasis, namely through reducing caloric intake, but for stimulating energy expenditure, as well.

Considering obesity, this hormone is extremely important in such context. Obesity is often referred to as the 21st century pandemic, and for that reason it should not be taken lightly when approaching the state of the world’s population’s health.

That being said, the state of excess body fat should potentially be reverted by leptin’s action. However, in the long run that ends up not being the case for most people. Instead, their body composition does not see any improvement, which results in a higher cardiovascular risk and in worsening other possible comorbidities, due to all metabolic disfunctions present in obese people.

Then, why does leptin have a poor or inefficient action in these individuals? The attempt to answer this question gave rise to the concept of leptin resistance. The scientific community is now investigating a causal explanation for such resistance, which could eventually result in a novel pharmacological therapy for obesity.

On the other hand, leptin plays a role in many other metabolic systems. These roles might help us better understand the mechanisms behind pathologies involving those systems where leptin is present.

So, this revision encompasses the main aspects concerning leptin, namely its action, its function, the development of leptin resistance and possible pharmacological targets for treating it and the interaction between leptin and other endocrine axes and other pathologies.

Keywords: Leptin; Obesity; Energy Homeostasis; Leptin Resistance; Interaction With Other Endocrine Axes.

O presente Trabalho Final exprime a opinião do autor e não da FMUL.

ÍNDICE

| Capítulo | Página |
|--|--------|
| 1. Introdução | 6 |
| 2. A leptina e o seu receptor | 8 |
| 3. Regulação endócrina do metabolismo energético | 11 |
| 3.1. Leptina | 11 |
| 3.1.1. Níveis circulantes de leptina | 12 |
| 3.1.2. Situações clínicas diversas | 15 |
| 3.2. Adiponectina | 16 |
| 3.2.1. Funções | 16 |
| 3.3. Resistina | 19 |
| 3.4. Grelina | 20 |
| 4. Outras funções da leptina: além da homeostase energética | 24 |
| 4.1. Regulação geral da função neuroendócrina e imunológica | 24 |
| 4.2. Efeitos reprodutores da leptina | 25 |
| 4.3. Efeitos da leptina no eixo tirotrófico | 26 |
| 4.4. Efeitos da leptina no eixo corticotrófico | 26 |
| 4.5. Efeitos da leptina na função imunológica | 29 |
| 4.6. Efeitos da leptina na fisiologia óssea | 30 |
| 4.6.1 Mecanismos directos | 30 |
| 4.6.2. Mecanismos indirectos | 30 |
| 4.7. O papel da leptina nas doenças do Sistema Nervoso Central | 32 |
| 4.7.1. A leptina e a doença de Alzheimer | 32 |
| 4.7.2. A leptina e a doença de Parkinson | 33 |
| 4.7.3. A leptina e a depressão | 34 |
| 4.7.4. A leptina e o acidente vascular cerebral | 34 |
| 4.8. A leptina e o cancro | 35 |
| 5. Desenvolvimento da resistência à leptina e o seu papel na obesidade | 37 |
| 6. Alvos farmacológicos potenciais | 38 |
| 6.1. Terapêutica para doentes com deficiência congénita de leptina | 39 |

| | | |
|--------|--|----|
| 6.2. | Potenciais terapêuticas aplicáveis a doentes hiperleptinémicos | 43 |
| 6.2.1. | Moléculas de sensibilização à leptina | 43 |
| 6.2.2. | Novos agonistas para o receptor de leptina | 45 |
| 6.2.3. | Alívio da inibição da sinalização do receptor da leptina | 45 |
| 6.2.4. | Aumentar a quantidade de receptores de superfície acessíveis à leptina | 46 |
| 6.2.5. | Aumentar o transporte através da barreira hematoencefálica | 47 |
| 6.2.6. | Diminuir o stress do retículo endoplasmático com chaperones químicas | 49 |
| 6.2.7. | Para outro tipo de doenças | 51 |
| 7. | Conclusão | 53 |
| 8. | Bibliografia | 55 |

1. INTRODUÇÃO

O trabalho que me proponho realizar não pretende, nem possui essa ambição, dar resposta a nenhuma das questões que a comunidade científica tem vindo a discutir nos últimos anos acerca da leptina. Pretendo, sim, discutir as funções metabólicas que a leptina exerce nos vários sistemas de órgãos e mostrar que este péptido faz muito mais do que apenas diminuir o aporte energético e estimular o gasto calórico e que poderá, no futuro, ser visto como uma arma terapêutica mais real do que presentemente no combate à obesidade.

A leptina é uma proteína composta por 167 aminoácidos, codificada pelo gene *LEP* ou *OB*, que se situa no cromossoma 6, tendo um peso molecular aproximado de 16kDa. Foi identificada pela primeira vez em 1994, por Jeffrey Friedman e pelos seus colegas e foi assim chamada, a partir da palavra *leptos*, que, em grego, significa magro.¹

Após a sua identificação, a leptina tornou-se a grande esperança num possível tratamento anti-obesidade, baseado na sua capacidade de diminuir a ingesta alimentar e de aumentar o gasto energético. No entanto, o tratamento de pessoas obesas com leptina exógena revelou-se infrutífero, na maioria dos casos, uma vez que essas pessoas já apresentavam concentrações plasmáticas elevadas de leptina, às quais não respondiam, o que definiu o seu estado de resistência à leptina. De facto, a terapêutica com leptina é ineficaz na redução da massa corporal em pessoas “comuns” obesas, mas eficaz nas pessoas com mutações no gene da leptina. Do ponto de vista prático, este facto acaba por não ter grande impacto no tratamento da obesidade enquanto epidemia global do século XXI, uma vez que a obesidade afeta cerca de 30 a 50% de toda a população mundial e foram apenas descritos 25 casos de deficiência congénita de leptina até 2015, tendo sido descritas seis mutações patogénicas no seu gene². Por este motivo, o tratamento de indivíduos obesos com leptina recebeu cada vez menos atenção, voltando-se os esforços para a prevenção e para a reversão do estado de resistência à leptina. Neste contexto, muitas das novas abordagens promissoras tentam restaurar a função do receptor da leptina, através de meios farmacológicos.

Esta hormona é segregada, principalmente, pelo tecido adiposo branco, mas também por outros tecidos, tais como o estômago, a mama, a placenta, o músculo esquelético, o coração, o rim e o cérebro.

Após a sua entrada em circulação, a leptina alcança o cérebro através da barreira hematoencefálica (BHE), por transporte passivo e saturável.

O seu papel metabólico fulcral é o controlo da homeostase energética, influenciando, também, diversas funções biológicas, mais à frente abordadas. Por este motivo, havendo uma desregulação ou alteração nas vias de sinalização da leptina, poderá surgir uma miríade de alterações metabólicas e não metabólicas, que se inter-relacionam.

Por todos estes motivos, dadas as inúmeras implicações metabólicas que a leptina tem, abordar este tema pareceu-me bastante desafiante e não menos fascinante. Assim, proponho-me a identificar alguns desses papéis da leptina, a explicar em que consiste a resistência à leptina e, por fim, a identificar possíveis alvos farmacológicos que podemos usar como arma no combate a essa resistência e, por inerência, à obesidade.

2. A LEPTINA E O SEU RECEPTOR

A regulação central da ingestão calórica e do gasto energético é controlada pela ligação da leptina ao seu receptor ObR (pertencente à superfamília de receptores citocina I). Foram descritas seis isoformas do receptor ObR (ObRa a ObRf), em consequência de *splicing* alternativo de mRNA, que têm um terminal extracelular N idêntico, mas diferem no seu domínio intracelular. As isoformas curtas são expressas ubiquamente e a sua função permanece incerta, mas sabe-se que a isoforma longa ObRb é essencial para a mediação da transdução intracelular do sinal da leptina e é responsável pelos seus efeitos a nível do controlo do peso corporal. A expressão desta isoforma é mais restrita em dietas com níveis elevados de lípidos.

A isoforma ObRa apresenta domínios C-terminal curtos e está maioritariamente envolvida no processo de endocitose e de transporte da leptina através da barreira hematoencefálica.³

A isoforma ObRe é a única solúvel e existe evidência de que, provavelmente, se liga à leptina circulante, afetando a sua estabilidade e disponibilidade.

O receptor ObRb está presente em diversos tecidos neuronais, sendo maioritariamente expresso nos núcleos hipotalâmicos, nomeadamente no núcleo arqueado (ARC), o hipotálamo ventromedial, o núcleo paraventricular, a área hipotalâmica lateral e o núcleo pré-mamilar ventral.

A acção da leptina em duas populações distintas de neurónios do ARC está bem documentada, sendo uma delas actuar sobre os péptidos orexigénicos *agouti-related peptide* (AgRP) e neuropéptido Y (NPY) e sobre péptidos anorexigénicos, tais como transcritos relacionados com a cocaína e anfetaminas (CART) e pro-opiomelanocortina (POMC).

O ARC tem um papel importante no desenvolvimento de resistência à leptina. Em exposição a uma dieta rica em lípidos, a fosforilação de STAT3 é reduzida drasticamente, o que contribui para uma diminuição da actividade de transcrição da célula, ao passo que em outros núcleos hipotalâmicos esta actividade está mantida e, por conseguinte, a sensibilidade à leptina nessas regiões continua íntegra.

Voltando ao receptor ObRb, aquando da ligação da leptina, são desencadeadas várias vias de transdução de sinal⁴:

- Via JAK2/STAT3 (*Janus tyrosine kinase 2/signal transducer and activator of transcription 3*), que leva a um aumento do sinal anorexigénico e a uma diminuição dos sinais orexigénicos;
- Via IRS/PI3K (*insulin receptor substrate/phosphatidylinositide 3-kinase*), que é essencial para a regulação da homeostase da glucose;
- Inibição da AMPK (*adenosine monophosphate-activated protein kinase*), que diminui a ingestão calórica;
- Activação da ERK (*extracellular signal-regulated kinase*), que medeia a ação anorexigénica da leptina no hipotálamo.

A ligação da leptina ao seu receptor, ObR, é o primeiro evento que provoca a mudança conformacional e oligomerização do receptor ObR.

Este receptor existe como um dímero pré-formado, que se pensa possuir uma ligação dissulfeto. A região N-terminal do receptor é composta por um domínio CRH1, um domínio semelhante a imunoglobulina (Ig), seguida de um domínio CRH2 e dois domínios fibronectina tipo 3 (FNIII), que se localizam próximo da porção transmembranar.

Os domínios CRH2 e Ig estão envolvidos na ligação à leptina e são necessários para a activação do receptor. A molécula de leptina pode ligar-se ao receptor em três zonas diferentes (I, II e III). A zona II de ligação é responsável pela interacção de alta afinidade entre o domínio CRH2 e a leptina. A zona de ligação III está envolvida nas alterações conformacionais e na activação do receptor ObR, ao interagir com o domínio Ig. O papel da zona de ligação I ainda está por esclarecer.

De acordo com este modelo de activação do ObR, a ligação de duas moléculas de leptina aos domínios extracelulares provoca uma mudança conformacional com a formação de tetrâmeros, formando um complexo de hexâmeros, se considerarmos também as duas moléculas de leptina.³

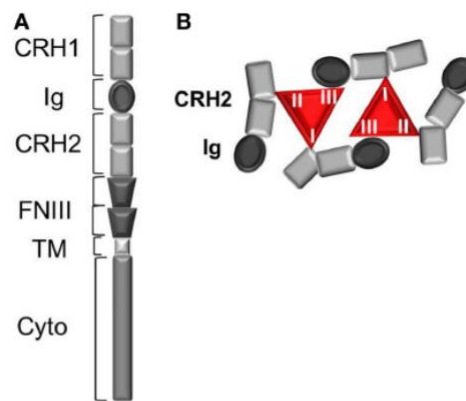


Figura 1 - A: Visão esquemática do protômero ObR; B: Complexo hexamérico do ObR

Compreender o receptor de leptina (ObR) é fundamental para a concepção de ferramentas terapêuticas específicas, que possam repor a sua função normal, em caso de resistência à leptina.

Ainda que em casos raros, podem acontecer mutações em genes únicos, que originem formas monogênicas de obesidade, nomeadamente as mutações dos genes ob/ob (no gene da leptina) e db/db (no gene do receptor da leptina), em ratos, por conduzirem à deficiência das proteínas que deveriam originar em condições normais. Nestes casos, tanto em ratos, como em humanos, verifica-se obesidade extrema, devido a hiperfagia, diminuição do gasto energético e resistência à insulina.

Como foi referido, estas alterações genéticas são raras e, paradoxalmente, a maioria dos humanos obesos tem níveis altos de leptina, proporcionalmente ao excesso de massa gorda, e respondem menos à acção da leptina, devido à diminuição da sensibilidade a esta hormona.³

É, então, colocada a possibilidade de que os macronutrientes provenientes da dieta possam ser responsáveis pelo desenvolvimento desta resistência à leptina, tendo principal destaque a gordura e o açúcar. Efectivamente, esta hipótese foi levantada após a realização de um estudo que demonstrou a existência de resistência à leptina, em ratos normoleptinémicos e com peso normal, após ingerirem, por um longo período, uma dieta rica em frutose.⁵ Esta descoberta abriu, assim, portas a que se pense que a resistência à leptina pode ser induzida por nutrientes, mesmo em indivíduos com peso normal e com níveis circulantes de leptina também normais.

3. REGULAÇÃO ENDÓCRINA DO METABOLISMO ENERGÉTICO

3.1. Leptina⁶

Como veremos mais à frente, a leptina tem influência em vários eixos endócrinos. Mostrou-se que, em humanos, a diminuição da leptina em resposta a privação alimentar é responsável pela supressão do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal, bem como de outros eixos neuroendócrinos.⁷

Assim, parece que a leptina é o elo entre o sistema reprodutivo, os centros neuroendócrinos hipotalâmicos reguladores da homeostase energética e a reprodução, e também, como se verá, entre a homeostase energética e o crescimento, função tiroideia, massa óssea e função imune, por exemplo.

Estas acções podem ser explicadas pelo efeito supressor que a leptina exerce na produção e secreção de neuropéptido Y (NPY) por neurónios do núcleo arcuado. O NPY é um forte estimulador do apetite e está envolvido na regulação de várias hormonas hipofisárias, nomeadamente, na supressão da hormona do crescimento (GH), através da estimulação da somatostatina, de gonadotropinas⁸ e na estimulação do eixo hipófise-adrenal.

A variável mais importante que controla os níveis circulantes de leptina é a massa gorda corporal. Em condições normais de alimentação, a leptina reflete a proporção de tecido adiposo, numa relação exponencial. No entanto, esta síntese é controlada tanto por variáveis hormonais, como por variáveis não-hormonais.⁹

A sua estimulação é feita principalmente por sobrealimentação, pela insulina e por glicocorticoides. A supressão é conseguida através do jejum, AMPc e agonistas adrenérgicos.

Foi demonstrado que ocorre produção de leptina após o aumento pós-prandial da insulina e que a sua produção diminui em resposta à diminuição da insulina ao longo do dia, devido ao jejum; sendo que o período noturno não obedece a esta premissa. Estudos anteriores teriam demonstrado que não havia efeitos agudos da ingesta alimentar nos níveis de leptina. No entanto, estudos mais recentes demonstraram que a ingesta e a insulina afetam de modo agudo a leptina.¹⁰

No caso de doentes com lipodistrofia, sabe-se que estes apresentam uma redução significativa dos níveis plasmáticos de leptina. A administração de leptina leva a uma

redução da massa gorda hepática e melhora a sensibilidade à insulina em humanos com esta patologia.¹¹

A leptina circulante atravessa a BHE e liga-se ao seu receptor no hipotálamo, onde ativa a via JAK/STAT3. A ablação do receptor ObRb leva à obesidade, indicando que as propriedades que induzem a diminuição da massa gorda se exercem a nível central.

Altas concentrações das isoformas ObRa e ObRb são encontradas no plexo coroide e na microvasculatura cerebral, o que sugere que desempenham um papel de relevo no transporte da leptina através da BHE.¹²

3.1.1. Níveis circulantes da leptina

Quanto à produção e secreção de leptina, é importante referir que a sua concentração plasmática mostra uma variação circadiana. Esta variação caracteriza-se por ter um pico noturno, por volta das 2:00 horas da manhã, sendo essa concentração, a esta hora do dia, 30% a 100% maior do que a concentração medida durante a manhã.

Como foi referido anteriormente, é produzida leptina em resposta ao pico de insulina pós-prandial. No entanto, parece que o maior pico de secreção de leptina ocorre durante a noite, tal como se verifica com a prolactina ou com a TSH.

Posto isto, pode levantar-se a hipótese de que a insulina pode ser um dos estímulos para que a leptina seja segregada e que, paralelamente, possa haver um outro factor que estimule a secreção noturna da leptina. Desta forma, alcançar-se-ia o efeito de sensação de saciedade pós-prandial, bem como o efeito supressor do apetite durante a noite enquanto dormimos, respectivamente.^{13,14}

Estando um indivíduo sob condições *standard* de alimentação, uma única medição de leptina sérica durante a manhã ou ao início da tarde é informativa.¹⁵

Quanto ao receptor solúvel de leptina, ObRe, verificou-se que indivíduos com anorexia nervosa apresentam uma concentração superior do que indivíduos saudáveis e que a mesma não é afetada por uma realimentação parcial. Pelo contrário, o IMC, a massa gorda corporal e a concentração sérica de leptina em doentes com anorexia nervosa aumentaram após realimentação parcial. Também se verificou que modificações opostas ocorrem noutras doenças do espectro das alterações do comportamento alimentar, tais como a bulimia e a *binge-eating-disorder* (BED).¹⁶

Para uma interpretação correcta dos níveis de concentração de leptina, é necessário seguir intervalos de referência. No entanto, por haver factores individuais que potencialmente podem interferir com os valores absolutos de leptinémia, estes intervalos

devem ser medidos com referência à percentagem de massa gorda ou ao IMC. As mulheres apresentam uma maior concentração de leptina do que os homens e as crianças e adolescentes revelaram uma variação consoante a idade. Assim, os intervalos de referência devem também levar em conta o sexo e o desenvolvimento pubertário dos indivíduos.

Em ambos os sexos, o aumento de leptina com a idade está associado a uma diminuição da concentração do receptor solúvel de leptina e, estas alterações, na puberdade, precedem o aumento das hormonas gonadais.

Em indivíduos jovens, não há diferenças entre sexos na concentração de leptina, mas os rapazes apresentam uma concentração superior de receptor solúvel de leptina. Em adultos, com a idade, não ocorrem alterações em nenhum destes dois parâmetros, mas as mulheres apresentam uma maior leptina sérica e uma menor concentração de receptor solúvel de leptina, havendo uma correlação negativa entre ambos.¹⁷

A hiperleptinémia é uma característica essencial na obesidade humana. O IMC é o melhor preditor das concentrações de leptina, sendo que a idade, a glicose basal e a etnia não afetam a concentração de leptina circulante. No entanto, é importante realçar que o tecido adiposo subcutâneo é responsável por segregar leptina em maiores quantidades, comparativamente ao tecido adiposo visceral.

Apenas em indivíduos insulino-sensíveis se verifica uma correlação positiva entre a insulina e a leptina, mesmo tendo em conta a massa gorda corporal. A diabetes não influencia a secreção de leptina, tanto em pessoas magras, como em obesas. Nas doenças do comportamento alimentar, nomeadamente na anorexia nervosa e na bulimia, o que acontece é que a leptina circulante reflete o IMC e a gordura corporal, não havendo uma *up-regulation* da leptina, que pudesse hipoteticamente inibir o apetite.

No entanto, em condições de balanço energético positivo (durante fases de aumento de peso) e de balanço energético negativo (durante fases de perda de peso), as variações na concentração de leptina funcionam como um sensor do desequilíbrio energético. Isto é melhor ilustrado através do jejum de curta duração e em situações de sobrealimentação. Nesse sentido, em jejuns de 24 horas, a leptina decresce na ordem dos 30% relativamente ao seu valor basal. Por outro lado, em sobrealimentação durante um período de 12 horas aumenta a leptina em cerca de 50%.

A ingestão de refeições não regula de maneira aguda a concentração de leptina. Isto é, verifica-se um aumento da leptina 4 a 6 horas após administração de insulina para

níveis suprafisiológicos. Tal como outras hormonas, a leptina apresenta um padrão circadiano e oscilatório.¹⁸

Em indivíduos magros, a maioria da leptina circula sob a forma ligada, ao passo que em obesos a maioria da leptina circula de forma livre. De facto, comparando a concentração de leptina livre em magros e obesos, ainda se torna mais patente a hiperleptinémia na obesidade, do que medindo apenas a concentração total de leptina. Além disso, durante o jejum a curto prazo, as concentrações de leptina livre diminuem em indivíduos saudáveis numa proporção muito maior do que em indivíduos obesos, que mantêm concentrações de leptina livre mais elevadas.¹⁹

No caso de indivíduos magros, com uma reserva energética relativamente baixa, e particularmente durante privação alimentar, a leptina circula predominantemente sob a forma ligada, o que pode explicar o mecanismo através do qual a leptina é restringida à sua acção nos receptores no hipotálamo, para que o efeito inibidor do apetite e na homeostase energética exercido pela leptina se sinta com menor intensidade nestes indivíduos.

Ao contrário daquilo que se verifica com a leptina sérica em pessoas obesas, que está muito aumentada, a leptina encontrada no líquido cefalorraquidiano está apenas modestamente aumentada e o rácio leptina no LCR/leptina sérica diminui logaritmicamente com o aumento do IMC. Se assumirmos que essa leptina no LCR se aproxima da concentração de leptina no líquido intersticial encefálico, isso significa que os núcleos hipotalâmicos de indivíduos obesos não estão expostos a concentrações anormalmente elevadas de leptina.

Outro caso de interesse é o caso dos doentes em que se descobriu que as concentrações de leptina são inapropriadas em relação à sua massa gorda. Assim, surge a hipótese de existir uma entidade, que consiste em deficiência relativa de leptina, que possa levar ao aumento da massa gorda total. Essa entidade é diferente da deficiência absoluta de leptina e poderá dever-se a mutações heterozigóticas no gene *OB*.

Em doentes com deficiência relativa de leptina, devido a lipodistrofia, o tratamento com leptina melhora significativamente as alterações metabólicas, nomeadamente a insulino-resistência e a hiperlipidémia.

A produção de leptina é regulada primariamente por alterações no metabolismo dos adipócitos, que são induzidas pela insulina.

Curiosamente, as gorduras e a frutose ingeridas com a dieta, por não aumentarem a secreção de insulina, levam a uma produção diminuída de leptina, o que torna claro o

mecanismo pelo qual dietas ricas em gorduras e açúcares levam ao aumento do *intake* energético e ao aumento de peso.

A resistência à insulina e a obesidade abdominal estão associadas a baixas concentrações do receptor solúvel de leptina e a um baixo rácio leptina ligada/leptina livre, independentemente da massa gorda. Estes dois componentes são marcadores de resistência à leptina, que está associada de forma independente à resistência à insulina e à obesidade abdominal e pode constituir mais um componente da síndrome metabólica.²⁰

Posto isto, e em conjunto com vários estudos realizados, podemos considerar que, no geral, o limite inferior do normal para os níveis de leptina parece ser de 3 ng/mL, mas o intervalo normal exacto continua sem estar definido, principalmente no que toca ao limite superior, devido aos diversos factores acima referidos.

3.1.2. Situações clínicas diversas

No campo da cardiologia, doentes com insuficiência cardíaca crónica avançada apresentam aumentos da leptina sérica e do seu receptor solúvel. Isto sugere que a leptina possa ter um papel no estado catabólico que leva a caquexia cardíaca ao longo do curso da patologia.²¹

Quanto a doentes com hepatite C crónica, apresentando IMC e glicémias elevados, a gravidade da fibrose hepática está associada à leptina sérica, que se encontra aumentada, ao passo que o seu receptor solúvel permanece inalterado.²²

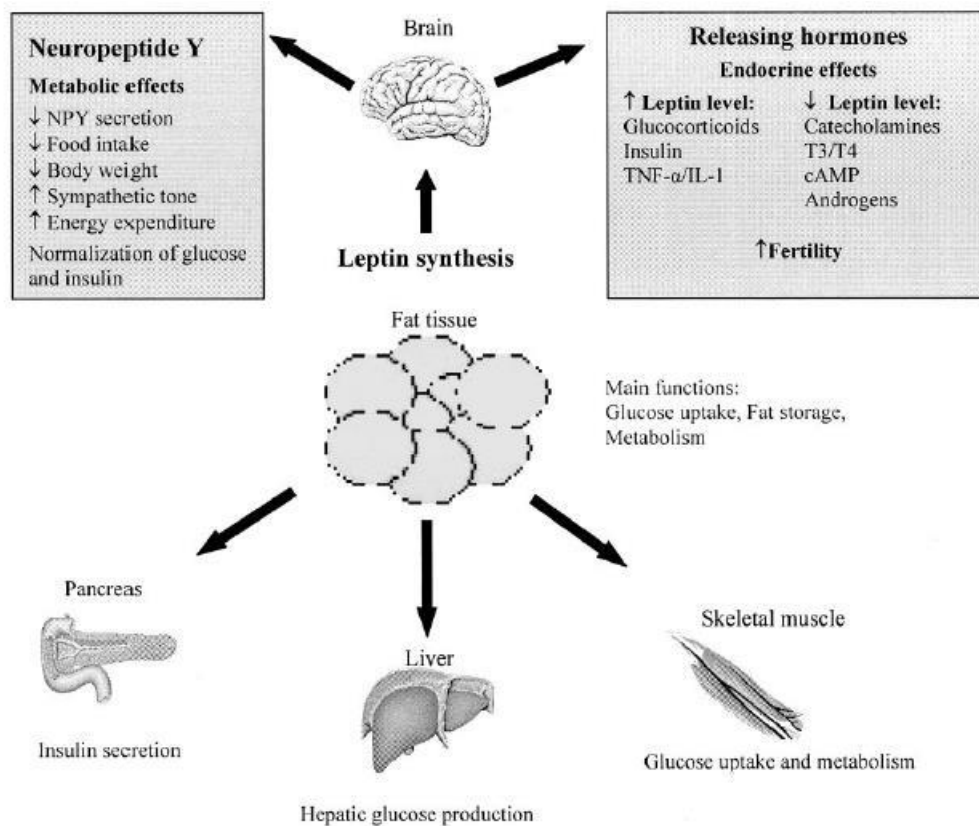


Figura 2 - Ação da leptina a nível central (hipotálamo) e em órgãos periféricos

3.2. Adiponectina⁶

A adiponectina é uma proteína específica dos adipócitos, produzida e por eles segregada. Possui funções relacionadas com a homeostase lipídica e da glicose.

A produção é induzida aquando da diferenciação dos adipócitos e a sua secreção é estimulada pela insulina. Quanto a este aspecto, é de notar que a insulina é eficaz na estimulação da secreção de adiponectina no tecido adiposo de indivíduos magros, ao passo que a estimulação da secreção de adiponectina no tecido adiposo de indivíduos obesos se encontra atenuada; o que pode explicar, em parte, a hiperinsulinémia e a diminuição da sensibilidade à insulina que se objectiva na obesidade.²³

3.2.1. Funções

Em ratos não-diabéticos, a injeção de adiponectina leva a uma diminuição na glicémia, dependente de insulina. Isto é possivelmente atribuível a efeitos sensibilizantes à insulina, envolvendo a regulação do metabolismo dos triglicéridos.²⁴ Uma forma truncada de adiponectina foi identificada e foi demonstrado que regula a perda de peso, bem como a oxidação de ácidos gordos livres no fígado e no músculo de roedores.

O mecanismo subjacente ao papel da adiponectina na oxidação lipídica parece envolver a regulação da produção ou actividade de proteínas associadas ao metabolismo dos triglicéridos, incluindo CD36, acyl CoA oxidase e o *peroxisome proliferator-activated receptor* (PPAR γ).²⁵

Existe uma correlação negativa entre a obesidade e a adiponectina circulante, isto é, a adiponectina aumenta à medida que se perde de peso. A diminuição da adiponectina está relacionada com o aumento da insulino-resistência e hiperinsulinémia. De facto, doentes com diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2), apresentando algum grau de resistência à insulina, apresentam níveis circulantes de adiponectina diminuídos. Além disso, elevadas concentrações de adiponectina estão associadas a um risco reduzido de desenvolver DM2. Neste contexto, as tiazolidinedionas aumentam a adiponectina em doentes insulino-resistentes, o que leva à diminuição dessa resistência, contribuindo para melhorar o perfil glicémico dos doentes.²⁶

O conteúdo lipídico intracelular no músculo humano é tanto menor, quanto maiores forem as concentrações de adiponectina, o que se poderá dever aos efeitos que esta exerce sobre a oxidação de ácidos gordos.

A redução da actividade do PPAR γ leva à protecção contra a obesidade e contra a DM2 induzida por uma dieta rica em gorduras. A adiponectina diminui a síntese lipídica e a produção hepática de glicose, levando consequentemente à diminuição da glicose e de ácidos gordos livres no sangue.

Quanto aos triglicéridos, a sua produção diminui e a oxidação de ácidos gordos, bem como a utilização energética por parte dos músculos aumentam.

Tanto a insulina como o IGF-1 promovem a síntese de adiponectina no tecido adiposo branco. Em presença de excesso calórico, a síntese e secreção da hormona em questão são ambas diminuídas, o que se poderá dever a uma associação com deficiência de leptina ou com a própria resistência à leptina.²⁷

Esta proteína pode ainda aumentar a sensibilidade do hepatócito à insulina através de um efeito directo ou indirectamente, através da diminuição da circulação de lípidos, pelas suas acções a nível do músculo.

Assim, a administração de adiponectina pode levar a uma melhoria do perfil de sensibilidade à insulina e de tolerância à glicose, podendo corrigir a hiperglicémia associada à obesidade.

As tiazolidinedionas, agonistas do PPAR γ , estimulam a expressão do gene da adiponectina e aumentam assim a sua concentração, em ratos obesos e em humanos

obesos com resistência à insulina. Como a adiponectina melhora a tolerância à glicose por aumentar a sensibilidade à insulina, o efeito das tiazolidinedionas ao nível da secreção de adiponectina pode explicar, em parte, o efeito hipoglicemiante destes fármacos em doentes com DM2.

Por outro lado, o $\text{TNF}\alpha$, que é produzido pelo tecido adiposo branco, interfere com a sinalização do receptor de insulina, contribuindo para a resistência à insulina e está aumentado na obesidade. O próprio $\text{TNF}\alpha$ suprime a produção de adiponectina no tecido adiposo e as tiazolidinedionas têm a capacidade de prevenir este efeito inibitório do $\text{TNF}\alpha$.²⁸

A adiponectina exerce, ainda, outros efeitos, tendo nomeadamente um papel antiaterogénico e anti-inflamatório. De facto, doentes com doença coronária têm níveis séricos de adiponectina diminuídos. Neste contexto, descobriu-se que o espessamento da camada íntima de artérias lesadas se encontra exacerbado em ratos deficientes em adiponectina e que este espessamento é inibido através de adiponectina exógena. Além disso, é também responsável por regular negativamente a produção de moléculas de adesão celular *in vitro*, suprimindo a adesão de monócitos e macrófagos.^{29,30}

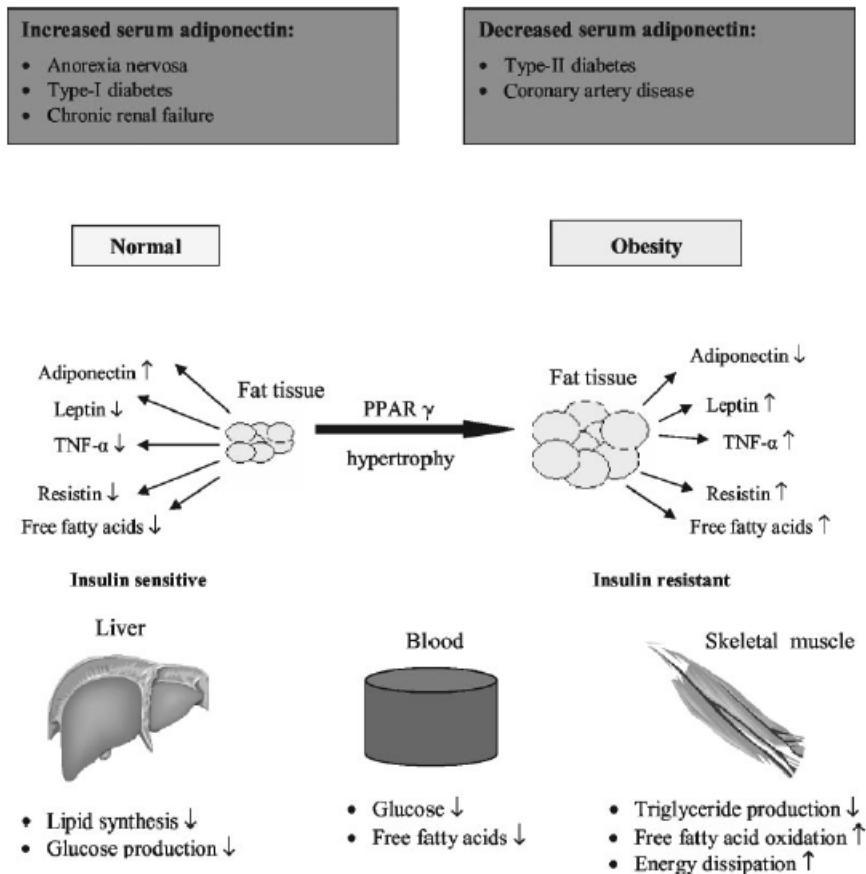


Figura 3 - Acção da adiponectina no tecido adiposo e em órgãos periféricos

3.3. Resistina⁶

A resistina é uma hormona produzida maioritariamente na fração estromovascular do tecido adiposo por monócitos.

Desconhecem-se várias funções potenciais da resistina. Isto deve-se ao facto de a maioria dos estudos ter sido realizada em modelos animais, nomeadamente em ratos, bem como à homologia incompleta que se verifica entre a resistina humana e a de roedores.

À medida que os adipócitos acumulam mais moléculas de gordura, libertam substâncias que podem modificar a sensibilidade à insulina de cada indivíduo, diminuindo-a ou aumentando-a. Como já foi discutido, os ácidos gordos livres e o TNF α libertados potenciam a resistência à insulina, ao passo que a leptina parece potenciar a sensibilidade a esta última.

Além de afectarem o perfil da supramencionada adiponectina, as tiazolidinedionas suprimem a produção de resistina pelos adipócitos e os seus efeitos antidiabéticos podem ter neste ponto uma possível acção de relevo.

Quanto às suas funções conhecidas até esta altura, é importante destacar que a resistina é responsável pelo aumento da glicémia e da insulinémia em ratos e prejudica a resposta hipoglicemiante de infusões de insulina. Por outro lado, anticorpos anti-resistina diminuem a glicémia e melhoram a sensibilidade à insulina em ratos obesos.³¹ Assim, estes factos levam-nos à interpretação de que a resistina promove e induz insulinoresistência e diminui a sensibilidade à insulina.

O papel da resistina na obesidade e na resistência à insulina em humanos é controverso. Encontrou-se mais resistina sérica em obesos do que em indivíduos magros, havendo uma correlação positiva significativa entre a resistina e o IMC. No entanto, esta correlação positiva permite afirmar que existe mais resistina no plasma de indivíduos obesos, mas não permite considerar a resistina como um preditor de insulino-resistência em humanos.³²

3.4. Grelina⁶

A grelina foi identificada pela primeira vez como uma hormona peptídica que estimulava a secreção de hormona do crescimento (GH) pela hipófise anterior.³³ Posteriormente, verificou-se que exerce também ações sobre o apetite e o balanço energético.

A sua síntese ocorre predominantemente nas células epiteliais do fundo gástrico, mas pequenas quantidades são também produzidas na placenta, rins, hipófise e hipotálamo.

Os seus receptores localizam-se não só em células produtoras de hormona do crescimento, na hipófise, onde se denominam *growth-hormone secretagogue receptor* (GHS-R), mas também no coração, hipotálamo e tecido adiposo.

Assim, após a sua identificação, ocorreu uma expansão do conhecimento acerca da regulação da hormona do crescimento. A grelina activa o receptor GHS-R localizado em células da hipófise e em neurónios hipotalâmicos libertadores de hormona do crescimento, estimulando a sua secreção.

No entanto, além desta função, a grelina também é responsável por controlar a homeostase energética. Assim, quando esta ligação ocorre em neurónios produtores de NPY ou de *agoutirelated peptide* (AGRP), localizados no núcleo arcuado do hipotálamo, o *intake* de alimentos é estimulado, através da síntese e da acção desses neuropéptidos. A grelina é, assim, responsável pelo único sinal orexigénico que provém do estômago.³⁴

Paralelamente, a grelina aumenta o tecido adiposo através da diminuição da oxidação de gorduras. A nível gástrico, é um potente agente gastrocinético, estimulando a motilidade e esvaziamento do estômago, o que se pode dever a um efeito local ou central, não estando ainda esclarecido qual predomina.

Em suma, podemos referir que a grelina é mais do que um mero secretagogo de hormona do crescimento, tendo também funções orexigénicas, metabólicas e cardiovasculares.

Em adultos humanos, a concentração plasmática de grelina duplica antes de uma refeição e diminui drasticamente uma hora após a sua conclusão.

Em casos específicos de balanço energético negativo, tais como dietas hipocalóricas, excesso de exercício, anorexia nervosa, entre outros, a grelina mostra-se constantemente aumentada.

De maneira oposta, em indivíduos obesos, a concentração de grelina é baixa, o que está relacionado com a elevada ingesta calórica. No entanto, se se verificar perda de peso, a grelina aumenta como consequência. Curiosamente, ainda que as concentrações de grelina estejam aumentadas em indivíduos sob dietas hipocalóricas, doentes que realizaram procedimentos de *bypass* gástrico apresentam concentrações de grelina baixas, o que pode indiciar que o tamanho do estômago está directamente correlacionado com as

concentrações desta hormona, fazendo este facto completo sentido, dado que esta é produzida pelo epitélio gástrico.

Em casos de anorexia nervosa, verifica-se uma associação desta patologia com elevadas concentrações de hormona do crescimento e baixas concentrações de IGF-1, o que sugere uma deficiência ao nível da acção da hormona do crescimento ou resistência a ela. Da mesma forma, os valores de grelina encontram-se aumentados nestes indivíduos, mas parece não existir relação directa entre estes dois valores.³⁵

De facto, verifica-se, durante a infância e durante a puberdade, uma diminuição na grelina sérica, o que sugere que esta hormona não desempenha um importante papel promotor do crescimento. No entanto, tendo em vista a sua relação com o IGF-1 e com a relação positiva com a *IGF-binding protein-1*, esta diminuição da grelina pode facilitar a aceleração de crescimento durante a puberdade.³⁶

Em crianças diabéticas, verifica-se uma concentração plasmática persistentemente baixa de grelina, o que pode consistir num mecanismo de defesa contra a hiperglicémia.

A relação entre a actividade da grelina e o balanço energético positivo na obesidade é reforçada por se verificar que a grelina está diminuída nesses casos. A grelina circulante é influenciada não só pela quantidade de tecido adiposo, mas também pela sua distribuição, não o sendo pela hormona do crescimento nem pelo IGF-1. No entanto, dado que a obesidade está associada a reduções da grelina e que a deficiência de hormona do crescimento está associada a gordura corporal aumentada, é possível que estas duas influências opostas na grelina circulante possam produzir concentrações normais em indivíduos com deficiência de hormona do crescimento.

Em suma, a grelina tem funções orexigénicas, adipogénicas e somatotrópicas, aumentando a ingesta alimentar e o peso corporal. É segregada predominantemente pelo estômago e é o ligando natural do GHS-R na hipófise. No entanto, a distribuição ampla da grelina por outros tecidos sugere que ela pode ter ainda outras funções; nomeadamente, parece potenciar a resposta imune e inibir algumas moléculas anti-inflamatórias.

O papel da grelina como um péptido que faz a ligação cérebro-trato gastrointestinal denota a importância das fibras vagais aferentes como uma via importante de sinalização para o cérebro.

Além de tudo isso, a grelina pode também ter efeitos cardioprotectores, servir como uma arma diagnóstica para a deficiência de hormona do crescimento e funcionar como um marcador de tumores neuroendócrinos

Posto isto, podemos dizer que a grelina parece ser um candidato promissor para o tratamento de estados catabólicos e para potenciar a função imune em estados de caquexia, bem como no tratamento de distúrbios do comportamento alimentar, tais como a obesidade e a anorexia nervosa.³⁷

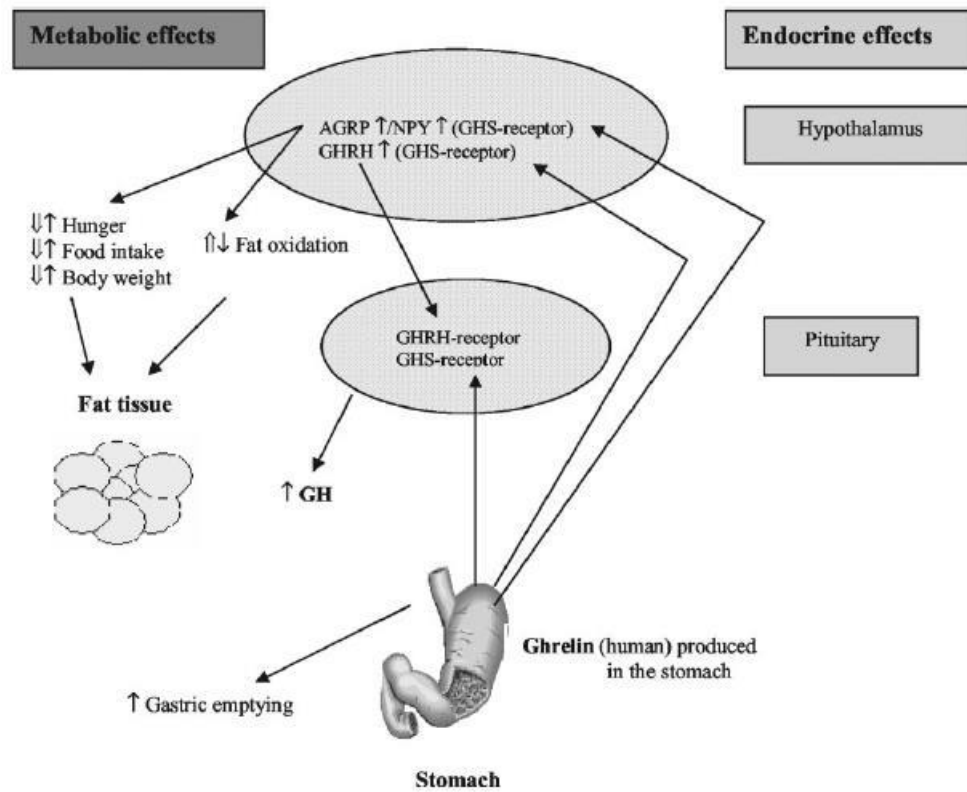


Figura 4 - Acção da grelina no tecido adiposo e no cérebro

4. OUTRAS FUNÇÕES DA LEPTINA: ALÉM DA HOMEOSTASE ENERGÉTICA

4.1. Regulação geral da função neuroendócrina e imunológica³⁸

A manutenção da função neuroendócrina e imunológica normal depende, em grande medida, da disponibilidade de reservas de energia adequadas. Evidências em modelos animais e humanos sustentam e atribuem um papel central à leptina, como um sinal de suficiência energética e como mediador da adaptação a estados de subalimentação e inanição. A deficiência congênita total de leptina e a hipoleptinemia aguda inferior a 1 ng/mL em humanos saudáveis induzem alterações nos eixos reprodutivo, da tireoide e do IGF, bem como da função imunológica. Por outro lado, o aumento sérico dos níveis de leptina para níveis superiores a 2-3 ng/ml, conseguido com a administração de um análogo sintético da leptina corrige, totalmente ou em parte, essas alterações. No entanto, foi proposta a existência de um limiar crítico, de aproximadamente 3 ng/mL de leptina, a partir do qual a leptina não tem efeitos fisiológicos adicionais na função neuroendócrina ou imune, apesar de ainda não se terem realizado estudos intervencionais nesse âmbito.

Foram estudadas mulheres, com leptina basal superior aos níveis normais de homens magros. Embora o jejum de 72 horas resulte num declínio percentual dos níveis de leptina semelhante ao que acontece nos homens (15-20% da linha basal), os níveis absolutos alcançados são cerca de 10 vezes maiores (2,8 ng/mL). Os níveis de leptina após a administração de r-metHuLeptin (28,8 ng/ml) foram superiores à linha de base, mas permaneceram dentro da faixa fisiológica e abaixo dos níveis (400-4000 ng/mL) alcançados com dosagem farmacológica. A diminuição dos níveis séricos de leptina para 2,8 ng/mL e o novo aumento da leptina para valores fisiológicos considerados elevados, teve efeitos modestos na pulsatilidade da LH e não alterou substancialmente nenhum outro parâmetro neuroendócrino, imunológico ou metabólico. São necessários estudos maiores e a mais longo prazo para esclarecer melhor este facto.

O aspecto único deste estudo está na exploração *in vivo* da diminuição de leptina de níveis médio-fisiológicos para baixo-fisiológicos, mas não para níveis extremamente baixos de deficiência grave de leptina. Dados anteriores de administração de leptina em indivíduos leptinodeficientes e indivíduos leptinonormais com deficiência relativa de leptina de curto prazo ou redução de 10% do peso corporal sugere que um nível de leptina de 2-3 ng/mL parece ser necessário para a regulação dos eixos neuroendócrinos

(particularmente o eixo hipotalálamo-hipófise-gonadal). É importante realçar que esses dados fornecem informações na "faixa normal" dos níveis de leptina, uma questão de considerável importância diagnóstica e terapêutica quando os análogos sintéticos da leptina ganham um lugar no arsenal terapêutico. Existe um limiar de leptina para a função neuroendócrina e imunológica, ao passo que pode haver um limite para o efeito da leptina sobre os parâmetros metabólicos (por exemplo, a resistência à leptina). Dada a natureza pleiotrópica da leptina e a complexidade do sistema de leptina, resta determinar se existem diferentes limiares para outras funções fisiológicas da leptina.

Em suma, podemos inferir que a leptina actua como tendo um papel permissivo na regulação da função neuroendócrina e imunológica, no sentido em que é necessária em determinados limites inferiores para “permitir” que estas funções se encontrem adequadamente reguladas no organismo.

4.2. Efeitos reprodutores da leptina³⁹

Foram estudadas mulheres na fase médio-folicular do ciclo menstrual, um momento importante para o desenvolvimento de folículos dominantes. A diminuição da leptina para níveis baixos, mas fisiológicos, diminuiu durante a noite a frequência de pulso de LH em 40%, mas não outros parâmetros pulsáteis, FSH ou níveis de hormonas esteroides sexuais. Embora o desenvolvimento folicular não tenha sido avaliado directamente, a manutenção dos ciclos menstruais normais argumenta contra mudanças substanciais no crescimento folicular e ovulação. De facto, as mulheres com peso normal diminuíram a frequência de pulso de LH durante jejum de curto prazo, apesar de terem mantido ciclos ovulatórios na maioria dos estudos.

A restauração parcial dos níveis de leptina com r-metHuLeptin durante o jejum de 4 dias foi associado a uma diminuição nos pulsos de LH durante a noite em mulheres de peso normal, mas os níveis de leptina expectáveis para um estado alimentado não foram atingidos.

Tem sido sugerido que a pulsatilidade do LH é interrompida quando se atinge um limiar de balanço energético negativo. A baixa disponibilidade de energia suprimiu o ritmo da leptina e alterou a pulsatilidade de LH em mulheres eumenorreicas. Da mesma forma, o jejum de 72 horas interrompeu o crescimento folicular e alongou a fase folicular em mulheres magras com gordura corporal abaixo de 20%, mas não em mulheres com peso normal e com percentagem de gordura corporal de cerca de 27%. Em suma, estudos sugerem que mulheres magras com valores baixos de leptina podem ser mais vulneráveis

ao déficit de energia do que mulheres com peso normal. Assim, a avaliação de mulheres muito magras durante um jejum de curto prazo pode fornecer informação sobre a contribuição relativa de um nível crítico de leptina em oposição à duração da hipoleptinémia e ajudar a perceber qual dos dois factores, tempo ou magnitude, da hipoleptinémia é mais determinante para que os seus efeitos se manifestem.

4.3. Efeitos da leptina no eixo tirotrófico^{40,41}

O jejum de 72 horas causou acentuada supressão da pulsatilidade de TSH, diminuição de T3 livre e aumento de T3 reversa. Humanos com deficiência funcional total de leptina, devido a defeitos no gene que codifica a leptina ou no gene que codifica o receptor de leptina têm a pulsatilidade de TSH alterada ou hipotireoidismo central. Em estudos pequenos e não controlados, a leptina aumentou os valores de T3 e T4 livres em crianças leptinodeficientes e reverteu a diminuição das hormonas tiroideias em indivíduos durante processos de perda de peso. Embora a normalização da leptina a partir de valores muito reduzidos (cerca de 0,2 ng/mL) tenha diminuído a supressão da pulsatilidade de TSH induzida pelo jejum em homens magros, aumentar a leptina de 2,8 ng/mL para 28,8 ng/mL não teve efeito na secreção de TSH em mulheres. Possivelmente, essas diferenças na pulsatilidade de TSH poderão estar relacionadas com um limiar inferior de leptina semelhante ao que acontece com o eixo hipotálamo-hipófise-gonadal. Assim, haverá um limite inferior a partir do qual começam a existir manifestações resultantes da deficiência de leptina, mas o aumento da leptina só compensa a regulação hormonal e apenas a ajusta para aquilo que é fisiologicamente necessário e, portanto, o aumento exagerado da leptina não resulta na secreção exagerada de outras hormonas, tais como a TSH e hormonas do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal.

4.4. Efeitos da leptina no eixo corticotrófico^{42,43,44}

Em períodos de *stress*, a hormona libertadora de corticotropina (CRH) ativa o eixo hipófise-adrenal e exerce efeitos anorexigénicos através dos receptores CRH tipo 1 no hipotálamo. Além disso, também a urocortina 2 (Ucn2) e a urocortina 3 (Ucn3) actuam como neuropéptidos com funções anorexigénicas, mas estes últimos através dos receptores CRH tipo 2.

Quanto à possível interacção entre a leptina e a CRH e urocortinas, ela surge na medida em que a própria leptina pode regular a expressão e activação de CRH e urocortinas no hipotálamo.

Assim sendo, a leptina exerce os seus efeitos anorexigénicos de maneira directa, através do seu próprio receptor, mas também de maneira indirecta, através dos neurónios CRH, que se localizam na sua maioria no núcleo paraventricular (PVN) e projectam-se de maneira difusa para outros núcleos, incluindo o núcleo ventromedial (VMN).

De facto, estes dois núcleos são os principais alvos da via leptina-CRH e estão, dessa forma, envolvidos na regulação do comportamento alimentar. Por este motivo, o bloqueio da sinalização da CRH atenua o efeito da leptina nesta vertente.

A administração central de CRH suprime a ingesta alimentar e a administração de leptina aumenta a expressão de mRNA do receptor CRH tipo 2 no núcleo ventromedial. No seu conjunto, estes factos demonstram haver uma sinergia entre estas duas hormonas, que potencia o efeito primordial da leptina. É também sabido que a CRH é responsável por dar resposta a situações de *stress*, o que acaba por ter um impacto importante no que diz respeito à ingesta alimentar, diminuindo-a.

Por outro lado, se nos focarmos agora na regulação periférica do metabolismo energético, terapêutica realizada com leptina aumentou o gasto energético e reduziu a deposição de gordura em tecido adiposo castanho (contendo mitocôndrias com UCP-1, que permite avaliar o gasto energético através da sua expressão), independentemente da sua acção no *intake* alimentar. Neste contexto, verificou-se que o bloqueio da CRH resultou numa diminuição destas alterações induzidas pela leptina no tecido adiposo castanho. Este fenómeno torna-se mais relevante se tivermos em mente que a administração de CRH aumenta a actividade nervosa simpática no tecido adiposo branco e que as UCP-1 são reguladas precisamente por fibras nervosas simpáticas. De forma semelhante, a administração de leptina afeta as UCP-1 do tecido adiposo castanho ao ativar nervos simpáticos.

Assim, olhando para o esquema geral desta via, além da influência que exerce na ingesta alimentar, podemos dizer que a via de sinalização leptina-CRH regula o gasto energético a nível periférico, maioritariamente através do PVN no hipotálamo, ao afectar a actividade nervosa simpática e a função das UCP-1 presentes nas mitocôndrias do tecido adiposo castanho.

Abordando, agora, o assunto sob o prisma do *stress* psicológico, sabemos (até empiricamente) que este último é um factor de risco para o aumento de peso, obesidade e síndrome metabólica. No entanto, se quisermos explicar esta relação de forma mais elaborada, talvez nos devamos focar no eixo hipotálamo-hipófise-adrenal-leptina.

O cortisol exerce *feedback* negativo sobre o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e idealmente mantém este eixo em equilíbrio quando o organismo se depara com alguma adversidade indutora de *stress*. Consequentemente, quando este *feedback* inibitório se encontra afetado, sendo mais fraco do que o expectável e necessário, verifica-se que a actividade deste eixo está diminuída, o que resulta em níveis mais elevados de cortisol, havendo uma associação com maior massa gorda e insulino-resistência.

Em modelos animais, a presença elevada de glicocorticóides promove a gliconeogénese, o que aumenta a vulnerabilidade à hiperglicémia provocada por *stress* ou obesidade. Além disso, em humanos, a hipercortisolínemia induzida farmacologicamente, em combinação com um sono não reparador, induz perda de sensibilidade periférica à insulina em indivíduos saudáveis.

O menor *feedback* exercido por parte do cortisol está associado a uma insulino-resistência significativa, o que sugere que a dinâmica do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal pode ser um marcador único de vulnerabilidade metabólica.

Quanto à leptina, ela é também um dos responsáveis por regular de uma forma inibitória este eixo, ainda que de forma secundária. Um estudo, ao tentar avaliar em cada momento a relação leptina/cortisol, revelou um padrão, segundo o qual a leptina se encontrava inversamente associada ao cortisol em apenas oito das 18 mulheres envolvidas nesse estudo. Nessas mulheres, a adição de leptina causava uma alteração previsível (de diminuição do cortisol sérico), ao passo que nas restantes a adição da mesma leptina não provocava qualquer alteração detetável.

Quando estamos perante um estado de baixa massa magra, baixos níveis de leptina e elevada reactividade por parte do cortisol, o eixo leptina-cortisol pode refletir a resposta neuroendócrina à fome. No entanto, aquilo que se verifica é que, na obesidade, isto pode mesmo acontecer, de forma obviamente paradoxal. No entanto, isso pode dever-se, segundo me parece, não há existência de níveis factualmente baixos de leptina, mas sim devido à resistência à leptina que existe em indivíduos obesos.

4.5. Efeitos da leptina na função imunológica^{45,46}

Num estudo realizado, a fome aguda em humanos normoleptinémicos determina uma alteração específica na distribuição periférica dos linfócitos que afecta de maneira diferente a resposta imune adaptativa e inata, no que toca ao número de células circulantes. A restauração dos níveis de leptina apenas teve um efeito importante nas alterações induzidas pelo jejum nas células com imunofenótipos naïve CD8+ e

CD45RA+, o que indica que a diminuição dos níveis de leptina para cerca de 2,8 ng/mL tem um papel pouco importante na mediação dos efeitos da fome a curto prazo em células mononucleares do sangue periférico. Da mesma forma, a capacidade proliferativa e produtora de citocinas *in vitro* das células T não foi afetada, sugerindo que esse grau de deficiência de leptina a curto prazo apenas perturba minimamente a função imunitária, isto é, induz alterações parciais da distribuição de células imunológicas, mas sem comprometimento da proliferação de células T contra antígenos policlonais clássicos e de memória.

A leptina reverte a imunossupressão associada a 48 horas de fome em ratos normais, aumenta a celularidade tímica e esplénica em ratos ob/ob deficientes em leptina e melhora a função das células T gravemente comprometidas em crianças com deficiência congénita de leptina. Assim, estudos destacam o contraste entre a deficiência de leptina leve (a curto prazo) e grave (a longo prazo) na função imune. Deficiência relativa de leptina após retirada de leptina em ratos sem gordura após administração de altas doses de leptina reduz a celularidade tímica e esplénica. A bioequivalência de 48 horas de fome em ratos é provavelmente mais próxima de semanas em humanos e, portanto, o jejum de 72 horas em humanos pode ser insuficiente para que ocorram alterações substanciais na função imune, mas mais estudos são necessários para esclarecer esse papel da leptina sobre um maior gama de níveis de leptina. Esta robustez do sistema imunológico é consistente com evidências de que a fome aguda não afecta a suscetibilidade a doenças infecciosas, enquanto a fome a longo prazo altera profundamente a resposta imune inflamatória e a susceptibilidade a doenças infecciosas. De facto, indivíduos anoréticos apresentam um comprometimento da imunidade mediada por células T e níveis muito baixos de leptina.

In vitro, em estado de hipoleptinémia, a função das células T, nomeadamente a proliferação para estímulos policlonais, sofreu uma redução marcada e foi totalmente restaurada quando a leptina foi adicionada em doses baixas.

A avaliação simultânea da função neuroendócrina e da função imune fornece uma oportunidade única para investigar se a regulação da função imunológica pela leptina pode ser mediada em parte por alterações de hormonais associadas à própria leptina. Observou-se uma correlação significativa entre o IGF-1 e subpopulações de células mononucleares do sangue periférico. O receptor IGF-1 é expresso em células imunitárias, incluindo células T activadas, células B, células NK e monócitos e exerce efeitos sobre as células T e células apresentadoras de antígeno, apoiando a noção de que o IGF-1 pode

ter efeitos imunomoduladores. No entanto, as correlações não provam causalidade e devem ser interpretadas com cautela em análises de estudos transversais. Outras investigações clínicas e sobre o papel destas hormonas, atuando isoladamente ou em conjunto com a leptina são necessárias.

4.6. Efeitos da leptina na fisiologia óssea^{47,48}

4.6.1 Mecanismos directos

A acção directa da leptina a nível do osso é sugerida pela existência do receptor de leptina em osteoblastos e condrócitos. Assim, parece que a leptina desempenha um papel no crescimento e metabolismo ósseo. Além disso, a leptina também regula a osteocalcina, que, por sua vez, não só regula o metabolismo ósseo, mas também a sensibilidade à insulina e o gasto energético.

Os adipócitos da medula óssea secretam leptina, tal como os outros adipócitos do organismo. Por este motivo, pensa-se que a leptina pode, localmente, mediar efeitos no osso. Efectivamente, este facto demonstrou-se quando se substituiu tecido ósseo de ratos que não possuíam receptor de leptina funcional, por osso proveniente de dadores com receptores funcionantes, o que resultou num aumento local da massa óssea, sem que houvessem quaisquer alterações na homeostase energética, o que dá a entender que alguns efeitos da acção da leptina no osso se devem a uma acção periférica e não central desta hormona.

4.6.2. Mecanismos indirectos

Ainda que a leptina actue perifericamente no osso, a administração central de leptina em ratos ob/ob conseguiu restaurar a massa óssea para níveis normais, sugerindo que a leptina pode influenciar o osso de modo indirecto.

Este efeito poderá dever-se à acção da leptina no hipotálamo ventromedial, que pode activar sinalização noradrenérgica local nos osteoclastos. Verificou-se que lesões nesta parte do hipotálamo impedem a restauração da massa óssea com a administração de leptina nesses mesmos ratos ob/ob, o que apoia a hipótese da atuação da leptina a esse nível e a importância do hipotálamo ventromedial nesta via.

Em modelos animais, foi comprovado que a leptina pode também actuar através do tronco cerebral e da sinalização serotoninérgica. A serotonina e a leptina têm efeitos opostos na massa óssea. Efectivamente, a leptina inibe a síntese de serotonina e os seus receptores. A ligação da serotonina aos seus receptores 2c no hipotálamo ventromedial e

aos seus receptores 1b em osteoclastos inibe o crescimento ósseo. A inibição da serotonina pela leptina contraria estes efeitos, induzindo crescimento ósseo.

A terapêutica com leptina aumenta os níveis de estrogénio, cortisol, IGF-1 e paratormona (PTH), o que aumenta a massa óssea e a sua densidade. Por este motivo, fica por esclarecer se o efeito da leptina no osso se deve a uma ação directa ou indirecta, através destas outras hormonas “efectoras”, ou ainda a uma combinação dos dois contextos.

Quanto ao estrogénio, este é ativado pela leptina através do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal, e induz o crescimento de osteoblastos. Sabe-se que, em mulheres pós-menopausa com osteoporose, a terapêutica de substituição hormonal leva ao aumento da densidade óssea e à redução de fractura osteoporótica. Ainda assim, alguns estudos não associaram a melhoria dos níveis de estrogénio com a melhoria da densidade óssea.

Ainda que o papel potencial do estrogénio na modulação indirecta desta conexão não possa ser desconsiderado, a combinação de baixa densidade ou massa óssea com níveis baixos de estrogénio pode ser mais indicativa do impacto que a leptina tem, tanto no estrogénio, como na massa óssea, do que indicativa do impacto do estrogénio na massa óssea.

O cortisol representa outra via indirecta através da qual a leptina atua no osso, na medida em que é inibido através do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, pela leptina. Como é sabido, o cortisol inibe não só a proliferação de osteoblastos e osteoclastos, mas também a hormona do crescimento (GH), que também tem um efeito anabólico no osso.

De facto, foram observadas correlações entre o nível de cortisol e marcadores de crescimento ósseo, sendo que existe correlação entre níveis mais elevados de cortisol com diminuição da massa óssea e de marcadores, como a osteocalcina.

No caso de elevada quantidade de tecido adiposo, o que pode aumentar a leptina e o cortisol, a resistência à leptina pode mediar efeitos negativos da obesidade no metabolismo ósseo. Assim, a inibição do cortisol pela leptina pode ajudar a melhorar o crescimento ósseo.

A tiroide e a paratiroide podem mediar relações entre a leptina e o metabolismo ósseo. A leptina activa as hormonas tiroideias através do eixo hipotálamo-hipófise-tiroide, através do estímulo da produção de TSH.

A PTH ativa os osteoblastos e o crescimento ósseo, quando administrada intermitentemente, ao passo que exerce uma ação catabólica no osso quando está aumentada de maneira estável e constante (por exemplo, no hiperparatiroidismo ou na

amenorreia hipotalâmica). Também tem influência na absorção de cálcio nos intestinos e na reabsorção ao nível dos rins, amentando-as.

A metreleptina (análogo sintético da leptina) diminuiu a PTH e o RANKL e aumentou a osteoprotegerina (OPG) em mulheres com amenorreia hipotalâmica, juntamente com um aumento na massa óssea. Portanto, infere-se que a leptina inibe a reabsorção óssea.

A GH e o IGF-1 são outros potenciais mediadores, activados através do eixo hipotalâmico-hipófise-hormona do crescimento. A GH leva à secreção de IGF-1, por parte do fígado e do osso. No entanto, a GH não é o único activador do IGF-1, tendo outras hormonas, como a PTH, estrogénio e cortisol esse mesmo efeito a nível do osso.

Dadas todas estas inter-relações, não é de estranhar que a leptina possa actuar de maneira indirecta o metabolismo ósseo.

4.7. O papel da leptina nas doenças do Sistema Nervoso Central⁴⁹

Ainda que exerça as suas principais funções a nível do balanço energético do organismo, a leptina está envolvida na fisiopatologia de várias doenças do SNC.

Assim, a falta de leptina em ratos e em humanos conduz a disfunção neuroendócrina, incluindo doenças neurodegenerativas, entre outras.

4.7.1. A leptina e a doença de Alzheimer

A doença de Alzheimer (DA) é a doença neurológica mais prevalente nos EUA. É uma doença progressiva, caracterizada sumariamente por um défice neurológico, que inclui perda de memória e declínio cognitivo. Além de apresentarem perda neuronal e de sinapses, os doentes com DA mostram, histologicamente, duas características distintivas: β -amiloide e emaranhados neurofibrilares, compostos por formas de proteína tau hiperfosforilada.

À luz daquilo que se sabe, a deposição de β -amiloide e de emaranhados neurofibrilares é crucial na fisiopatologia da doença. Ora, neste sentido, mostrou-se que a leptina tem um papel na reversão destes dois elementos presentes na DA e resulta em melhores *outcomes* neurológicos em cada fase da doença.

O tratamento com leptina de células neuronais reduz a quantidade de β -amiloide segregada, de uma forma tempo-dependente e dose-dependente. Além disso, promove o *uptake* conduzido por Apo-E do amiloide para os neurónios. Quanto à fosforilação da

proteína tau, ela é modulada pela leptina, o que representa uma via significativa de protecção contra a DA.

Assim, existe evidência de que a leptina previne a acumulação tóxica de β -amiloide e de proteína tau fosforilada nos neurónios e tem a capacidade de melhorar a performance em várias tarefas que envolvem a memória, em roedores.

Estudos clínicos recentes mostram que indivíduos com níveis de leptina mais elevados têm um risco muito menor de desenvolver DA, o que está em linha com estudos realizados em ratos e células. Pelo contrário, em ratos com DA, a leptina sérica encontra-se muito diminuída e a injeção direta de leptina no seu hipocampo consegue melhorar o processamento da memória e potenciar e modular a plasticidade sináptica a longo prazo. Assim, analisados todos estes factos, coloca-se a hipótese de que a leptina possa desempenhar um papel de relevo na terapêutica da DA.

4.7.2. A leptina e a doença de Parkinson

Depois da DA, a doença de Parkinson (DP) é a segunda doença neurodegenerativa mais frequente. A DP é caracterizada por um conjunto de quatro sintomas clássicos: tremor em repouso de baixa frequência, rigidez dos músculos da face e mãos, bradicinésia e, em fases mais avançadas, instabilidade postural.

A leptina mostrou, anteriormente, ser capaz de promover a sobrevivência de células de linhagem neuroblastoma e de células neuronais dopaminérgicas, quando expostas a 1-metil-4-piridino (MPP+), uma neurotoxina específica para células dopaminérgicas, usada em modelos experimentais de DP, por ser capaz de manter os níveis de ATP e o potencial de membrana mitocondrial.

Modelos *in vivo* mostraram que, após dois meses de exposição à neurotoxina, o comportamento motor é salvaguardado em animais tratados com leptina, em contraste com controlos, que patenteiam degeneração de neurónios dopaminérgicos. Esta salvaguarda ocorre devido à preservação da função nigroestriatal. Além disso, o tratamento com leptina aumentou a expressão de *uncoupling protein-2* (UCP-2) e de *uncoupling protein-4* (UCP-4) mitocondriais, dois elementos fundamentais para a redução do *stress* oxidativo na mitocôndria e, consequentemente, para o balanço energético.

Descobriu-se que doentes com DP que perdem peso de forma não intencional, os níveis séricos de leptina estão abaixo dos níveis daqueles que mantêm um peso estável, o que é consistente com a diminuição de massa gorda. A perda de peso associada à DP

resultaria, então, em menor massa adiposa, que leva a uma menor síntese de leptina. Esta situação é bem exemplificadora da associação entre baixos níveis de leptina no cérebro e a patogénese da doença neurodegenerativa.

A leptina pode reduzir ou prevenir a apoptose neuronal induzida por uma vasta quantidade de condições patológicas e pode levar a melhores *outcomes* funcionais em estados de doença neurodegenerativa, especialmente naqueles que estão associados a obesidade e doenças metabólicas.

4.7.3. A leptina e a depressão

A depressão é uma doença mental com importante morbilidade e mortalidade associadas. Actualmente, as terapêuticas farmacológicas principais têm como alvo os sistemas monoaminérgicos. A administração sistémica de leptina tem efeitos comportamentais antidepressivos, ao activar o receptor ObRb no hipocampo, no giro dentado. Pelo mesmo motivo, a supressão de ObRb do hipocampo resulta em comportamentos depressivos e atenua este efeito da leptina e o bloqueio da sinalização de leptina no giro dentado reverte os efeitos antidepressivos da leptina. Estes factos sustentam que a leptina possui um papel comportamental importante, relacionado com o humor.

Em suma, aumentar a sinalização de leptina a nível cerebral, pode representar uma nova abordagem no tratamento de patologia depressiva.

4.7.4. A leptina e o acidente vascular cerebral

Os mecanismos fisiopatológicos da lesão cerebral por alterações isquémicas e de reperfusão estão relacionadas com a deficiência energética de neurónios, com a resposta celular excitatória, com a inflamação e com a cascata de apoptose.

Estudos recentes sugerem que a leptina diminui a lactato desidrogenase nos tecidos e, por conseguinte, diminui o rácio ácido láctico/piruvato, resultando na mitigação da acidose, devido ao metabolismo anaeróbico cerebral. Este efeito é revertido pelo LY294002 (inibidor de fosfatidilinositol 3-quinases – PI3K), o que indica que a via de sinalização PI3K/Akt tem um papel muito importante na neuroprotecção mediada pela leptina.

Demonstrou-se que a neuroprotecção exercida pela leptina, em modelo animal de isquémia focal permanente, está associada a modulação da fosforilação da STAT3 em populações celulares diferentes do cérebro afectado. Os efeitos positivos da

administração de leptina em modelos de roedores de AVC isquémico são promissores e de potencial valor terapêutico em humanos. No entanto, são necessários mais estudos clínicos e científicos antes da utilização da leptina na prática clínica, para este fim.

4.8. A leptina e o cancro

Vários estudos apontam para que a expressão do receptor de leptina ocorre numa vasta quantidade de tipos de tumores e para que a sinalização dependente de leptina é importante na regulação de vários factores importantes na progressão de cancro, incluindo a proliferação tumoral, metastização, angiogénese e resistência a fármacos.

As células tumorais libertam leptina e expressam receptor de leptina, o que sugere que esta pode ter, potencialmente, um papel relevante na progressão tumoral.

A expressão relativa de leptina encontra-se aumentada no carcinoma da bexiga, da mama, no linfoma difuso de células B grandes, cancro do pulmão, do ovário, pancreático e testicular. Além disso, o receptor de leptina é expresso em maior quantidade nos cancros renais, hepáticos, pulmonares, no mesotelioma, ovário, pâncreas, próstata, sarcoma, tireoide e leucemia mieloide aguda, indicando o potencial patológico deste eixo em vários tumores.⁵⁰

Descobriu-se que a expressão de leptina e do seu receptor está associada a um pior prognóstico, no que toca à sobrevida a três anos no carcinoma do endométrio.⁵¹

Um estudo de coorte acerca do carcinoma do ovário mostrou uma correlação significativa entre co-expressão de leptina e do receptor de leptina e uma diminuição da sobrevida dos doentes.⁵²

De acordo com descobertas prévias em publicações e com análises de simulações computacionais de bases de dados clínicos de doentes com cancro, a expressão de leptina e do seu receptor são encontrados em diversos tipos de cancro. A sinalização através deste eixo também está envolvida na regulação de vários processos chave da progressão de cancro, incluindo a proliferação celular, metástase, angiogénese e resistência a fármacos.

Demonstrou-se que a função do eixo leptina-receptor de leptina está aumentada no cancro de mama, cabeça e pescoço, pulmão, ovário e pancreático, indicando que este eixo pode ter um papel importante na progressão tumoral.⁵⁰ Outra interpretação que se pode fazer deste facto é que estas alterações podem ser secundárias ao próprio tumor, sem que tenham importância propriamente dita para a sua progressão.

Na clínica, a leptina e o seu receptor são tidos como marcadores de pior prognóstico em diversos tipos de cancro supramencionados. No entanto, este eixo é

também preditor de *outcome* positivo em tumores dos tecidos moles. Isto pode dever-se ao potencial envolvimento de outras vias de sinalização, que estabelecem uma complexa rede de interações, contribuindo para diferentes *outcomes* em certos tipos específicos de cancro.⁵³

É de notar que a quantidade de casos incluídos em coortes também limita o poder prognóstico e é difícil determinar o número suficiente de doentes para predizer o *outcome* e reflectir a realidade.

Dada a discrepância de dados fornecidos por alguns estudos, quanto à função e à influência do eixo leptina-receptor de leptina na progressão e expressão tumoral, bem como no *outcome* clínico, o papel deste eixo e da sinalização mediada por leptina permanece incerto e pouco claro, sobretudo no que toca à promoção ou inibição de determinados tipos de cancro.

Uma possível explicação para este facto será que os efeitos mediados pela leptina, quer sejam estimulantes ou inibitórios, são alterados parcialmente por outros receptores presentes nos diferentes tumores. No entanto, o campo de uma possível base fisiopatológica da leptina no cancro requer mais investigação.

5. DESENVOLVIMENTO DA RESISTÊNCIA À LEPTINA E O SEU PAPEL NA OBESIDADE³

As bases moleculares para a ocorrência desta resistência ainda estão por esclarecer, mas várias hipóteses estão a ser estudadas:

- Diminuição do transporte de leptina para o cérebro;
- Disfunção da plasticidade neuronal;
- Sobre-ativação de sinais inibitórios da sinalização da leptina;
- Hiperleptinemia,
- Defeito no trânsito de ObR;
- *Stress* ao nível do retículo endoplasmático.

A cada um destes pontos corresponde uma potencial via de investigação de alvos farmacológicos, que serão abordados mais à frente.

6. ALVOS FARMACOLÓGICOS POTENCIAIS

Em 2016, segundo dados da Organização Mundial de Saúde, 39% da população mundial, acima dos 18 anos, tinha excesso de peso. Estes números configuram valores absolutos na ordem dos 1,9 mil milhões de pessoas, acima dos 18 anos, com excesso de peso. Entre estes, mais de 650 milhões são obesos.

Por este motivo, encontrar uma terapêutica eficaz para a obesidade revela-se de extrema importância para a população mundial. Podemos dizer que a cirurgia bariátrica é, hoje em dia, uma opção válida (e a longo prazo) para tratar a maioria dos casos de obesidade grave. No entanto, a verdade é que muitos doentes não são elegíveis para a cirurgia: por estarem fora dos limites de IMC recomendados ou por apresentarem comorbilidades que elevam em demasia o risco cirúrgico. Além disso, temos ainda de considerar a hipótese de reganho, que se deverá, na esmagadora maioria, à dificuldade em alterar o estilo de vida e os hábitos alimentares.

Tudo isto culmina num objectivo traçado no combate à obesidade: encontrar uma terapêutica médica, com boa tolerância a nível de efeitos secundários, com menos riscos do que a cirurgia e que se possa alargar a todos os obesos, não excluindo aqueles que são “demasiado magros ou demasiado gordos” para serem operados, sendo ainda potencialmente mais barato do que a cirurgia bariátrica.

A obesidade é uma doença multifactorial, que provoca a perda do equilíbrio entre o gasto energético e as calorias ingeridas. A massa gorda em excesso está associada a um maior risco de desenvolvimento de diabetes tipo 2, doença cardiovascular e diversos tumores.

Do ponto de vista teórico, o fármaco ideal para o combate à obesidade poderá atuar de uma de duas formas: através da diminuição do aporte calórico ou através do aumento do gasto energético.

Neste sentido, a descoberta da leptina abriu novas portas nesta investigação. A administração de leptina recombinante, quer a ratos, quer a humanos obesos com deficiência congénita de leptina, diminui significativamente a massa corporal e o aporte calórico. Além disso, a terapêutica com leptina em doentes com níveis muito baixos de leptina ou com deficiência de leptina mostrou ser relevante em doenças como a lipoatrofia e lipodistrofia, anorexia nervosa, amenorreia hipotalâmica e outros distúrbios neuroendócrinos.

No entanto, verificou-se que a monoterapia com leptina recombinante se mostrou totalmente ineficaz na redução de massa gorda em ratos com obesidade induzida pela dieta e em humanos que não são deficientes em leptina, mas sim hiperleptinêmicos, mas com perda de resposta a este neurotransmissor. Assim surgiu o conceito de resistência à leptina. Desta forma, conclui-se que, na fase de desenvolvimento científico em que nos encontramos hoje em dia, a prevenção e reversão da resistência à leptina representam o verdadeiro desafio nesta questão.

Posto isto, distinguem-se dois grupos diferentes de indivíduos, que têm em comum falhas no sistema da leptina. Primeiro, falar-se-á das perspectivas terapêuticas para os doentes com mutações no gene codificador da leptina e/ou mutações nos genes codificadores do receptor de leptina. Depois, abordar-se-ão as perspectivas de tratamento da esmagadora maioria dos doentes obesos, aqueles que são hiperleptinêmicos e que desenvolveram resistência à leptina. Finalmente, será feita referência a possíveis terapêuticas combinadas com leptina, que visem a melhoria de um estado ou doença de base, dado o papel importante que a leptina desempenha em diversos sistemas orgânicos.

6.1. Terapêutica para doentes com deficiência congénita de leptina – por mutações no gene codificador da leptina e/ou mutações nos genes codificadores do receptor de leptina^{54,55,56,57}

A administração de leptina recombinante, quer a ratos, quer a humanos obesos com deficiência congénita de leptina, diminui significativamente a massa corporal e o aporte calórico. Além disso, a terapêutica com leptina em doentes com níveis muito baixos de leptina ou com deficiência de leptina, mostrou ser relevante em doenças como a lipoatrofia, anorexia nervosa, amenorreia hipotalâmica e outros distúrbios neuroendócrinos.

Foi realizado um estudo com três indivíduos, um do sexo masculino e dois do sexo feminino, com deficiência congénita de leptina documentada.

Verificou-se que, nestes doentes, a terapêutica com leptina recombinante humana teve efeitos a vários níveis:

- Massa corporal e ingesta alimentar
 - O IMC diminuiu de cerca de 51,2 kg/m² para 36,5 kg/m², após 6 meses, tendo atingido os 26,9 kg/m² ao fim de 18 meses.

- O *intake* calórico diminuiu na ordem dos 49%, de cerca de 2330 kcal para 1180 kcal, após 2 semanas de terapêutica, tendo atingido o mínimo após 4 a 6 meses. Depois deste período, aumentou progressivamente.
- Composição corporal
 - Verificou-se, preferencialmente, perda de massa gorda em indivíduos sujeitos à terapêutica. Além disso, também ocorreu uma perda de massa magra, substancialmente mais pequena do que a perda de massa gorda. Em média, ao fim de 18 meses, os participantes no estudo tinham apenas 26,3% da sua massa gorda inicial e conservaram 77% da sua massa magra.
- Função endócrina
 - Antes de iniciar terapêutica de substituição com leptina, o participante do sexo masculino apresentava hipogonadismo, com medições de testosterona e de testosterona livre abaixo do normal para a sua idade. Após 6 meses de terapêutica, o indivíduo referiu aumento de força muscular e bem-estar geral. Além disso, documentou-se um aumento da pilosidade facial, aparecimento de acne, desenvolvimento de pilosidade púbica e axilar, crescimento peniano, dos testículos e padrões ejaculatórios normais, consistentes com a reposição da normal função gonadal.
 - Antes de iniciarem terapêutica, as duas participantes do sexo feminino apresentavam um padrão menstrual regular, associado a níveis baixos de progesterona na fase lútea do ciclo. Após a terapêutica, foram atingidos níveis de progesterona superiores a 10 ng/mL, na mesma fase do ciclo, indicativos de ovulação.
 - Quanto aos níveis de glicose e de insulina, o participante masculino e uma das femininas, apresentavam níveis basais normais. Também tinham tolerância normal à glicose após 2 horas e provas de tolerância oral à glicose normais. A outra participante feminina tinha diagnóstico de diabetes *mellitus* tipo 2. Sem terapêutica específica para a diabetes, os níveis de glicose em jejum e pós-prandial diminuíram após 2 meses e a sua hemoglobina A1c encontrava-se dentro dos valores normais. Os participantes sem diabetes apresentaram uma redução da insulina e de péptido C para menos de metade

dos seus valores originais, o que é indicativo de uma diminuição da resistência à insulina.

- Ritmos endócrinos por 24 horas
 - Os níveis de leptina, LH, testosterona e cortisol aumentaram significativamente 6 meses após a terapêutica de substituição com leptina.
 - Não houve alterações no número de pulsos de LH e testosterona
 - Houve menos pulsos de cortisol (de 25 para 19), com picos mais altos, incluindo uma subida matinal maior.
- Grelina e adiponectina
 - À medida que os participantes foram perdendo peso, os níveis de adiponectina em jejum aumentaram, ao passo que os níveis de péptido C diminuíram.
- Eixo IGF
 - Antes do início da terapêutica, todos os parâmetros relacionados com o IGF estão dentro do normal, à exceção do IGFBP-1, que estava abaixo do limite normal.
 - A terapêutica resultou numa elevação do IGFBP-2 e do IGFBP-1, visível após 2 meses. Após 18 meses, os seus níveis estavam perto do limite superior do intervalo ou acima dele.
 - Os valores de IGF-I, IGF-II, IGFBP-3 e IGFBP-6 não mostraram alterações.
- Lípidos
 - A alteração principal do perfil lípido, nos três participantes, era a redução do colesterol HDL. O LDL e os triglicéridos estavam dentro dos valores normais, à exceção dos triglicéridos de uma das participantes femininas.
 - Durante o período de tratamento, os níveis de triglicéridos diminuíram entre 49-66%, com uma redução menor, mas também patente, de LDL (21-65%) e de apolipoproteína B (18-40%).
 - Verificou-se um aumento de HDL, sobretudo entre o oitavo e 18º meses. No entanto, os níveis de apolipoproteína A1 não sofreram alterações significativas.

- Comportamento
 - Em estado basal, prévio ao tratamento, os participantes não tinham pontuação para ansiedade ou depressão na escala de Hamilton.
 - O comportamento que mais se alterou foi o comportamento relativo à ingesta alimentar, que diminuiu.
 - Quanto ao comportamento não-alimentar, alterou-se, nos três participantes, de dócil e um pouco infantil para assertivo e adulto em duas semanas de terapêutica, mesmo antes da perda de peso. Esta observação é subjetiva, mas foi verificada por psiquiatras experientes.

Estes resultados apontam para que a leptina tenha, de facto, efeitos centrais, que são altamente relevantes na regulação do peso corporal.

Estudos prévios já tinham documentado que, em crianças submetidas a terapêutica de substituição com leptina a longo prazo, se conseguia reverter os efeitos da deficiência nesta hormona, conseguindo essas crianças atingir a puberdade em idade apropriada. No entanto, fica agora claro que esta terapêutica é, também, capaz de reverter a deficiência de leptina completamente estabelecida e eficaz até em casos de obesidade mórbida durante várias décadas. Além disso, esta terapêutica é eficaz na resolução das complicações da própria obesidade, tais como a diabetes *mellitus* tipo 2, e que pode induzir a puberdade, mesmo uma década ou mais após a sua idade normal.

O início da instituição desta terapêutica esteve associado a uma diminuição da ingesta alimentar. Depois de os participantes atingirem um mínimo de consumo alimentar, após 4 a 6 meses, verificou-se um aumento gradual do consumo de alimentos, até ao nível calórico basal, mas sem nunca o exceder em grande medida. No entanto, paralelamente, a actividade física dos participantes começou a aumentar, acima da sua *baseline* calórica. Assim, presume-se que, inicialmente, o facto que permitiu a redução de peso foi a redução do consumo calórico, mas que, após 4 a 6 meses, foi o aumento da actividade física a ter um papel predominante na perda de peso. Conclui-se que os profundos efeitos da leptina se devem a uma combinação de uma inicial redução do *intake* de comida e de um aumento progressivo da actividade física.

Assim, poderá colocar-se a hipótese de que a perda de peso em doentes que não são deficientes em leptina poderá ser mais eficaz no contexto de intervenções que inicialmente diminuem a ingesta alimentar e que, depois, aumentam progressivamente a actividade física, sem aumentar a ingesta alimentar acima da *baseline*.

6.2. Potenciais terapêuticas aplicáveis a doentes hiperleptinémicos – com resistência à leptina

Ao contrário daquilo que acontece nos doentes com alterações congénitas no sistema da leptina, verificou-se que a monoterapia com leptina recombinante se mostrou totalmente ineficaz na redução de massa gorda em ratos com obesidade induzida pela dieta e em humanos que não são deficientes em leptina, mas sim hiperleptinémicos, com perda de resposta a este neurotransmissor.

Desta forma, conclui-se que a prevenção e reversão da resistência à leptina representa o verdadeiro desafio nesta questão. No seguimento desta afirmação, apresenta-se a discussão dos potenciais alvos farmacológicos, nos pontos seguintes.

6.2.1. Moléculas de sensibilização à leptina³

A administração de leptina recombinante humana leva a uma diminuição da hiperfagia e à perda de peso, em humanos portadores de mutações no gene da leptina. A administração de leptina também demonstrou ser eficaz em doentes com lipodistrofia (os doentes com lipodistrofia caracterizam-se por apresentarem uma praticamente inexistente massa gorda, o que leva a uma diminuição da secreção de leptina, resultando em ingestão calórica excessiva, a qual acaba por ser armazenada sob a forma de gordura no fígado e no músculo, o que leva a diabetes tipo 2 e a níveis séricos elevados de lípidos) e para o tratamento de anorexia nervosa. No entanto, a esperança na leptina recombinante humana acabou por cair por terra no final dos anos 90, quando se verificou a sua incapacidade de induzir perda de peso na maioria dos indivíduos obesos, ou seja, obesos com resistência à leptina.

Em dietas que se baseiam numa restrição calórica acentuada e prolongada, verifica-se que, aliada à perda ponderal, ocorre progressivamente uma queda dos níveis de leptina plasmática, como resposta metabólica adaptativa, o que dificulta a perda de peso a longo prazo. Nestes casos, verificou-se que a realização de terapia de substituição da leptina é eficaz na manutenção e no prolongamento do período de perda de peso. No entanto, acabou por se verificar que este efeito é mínimo e que a terapia de substituição de leptina não é suficiente.

Assim, do ponto de vista teórico, a combinação de leptina com moléculas que aumentem ou restaurem a sensibilidade central à leptina constitui uma terapêutica

extremamente promissora para a perda de peso. Com este objectivo, foram analisados os efeitos das seguintes moléculas em conjunto com a leptina:

- Amilina e análogos
 - Segregada em conjunto com a insulina, pelas células β -pancreáticas, em resposta ao consumo de alimentos;
 - Os seus receptores estão dispersos pelo cérebro, regulam o balanço energético e a homeostase da glicose;
 - Administrada em conjunto com leptina, em ratos com obesidade induzida pela dieta, resulta numa maior inibição da ingesta calórica e perda de peso, relativamente à monoterapia, o que sugere que a amilina restaura a resposta à leptina em modelos leptina-resistentes;
 - A longo prazo, melhora o perfil metabólico, com diminuição da insulina plasmática, dos lípidos plasmáticos e um metabolismo da glicose favorável;
 - Potenciais problemas de segurança;
- CCK (colecistocinina)
 - Tem sinergia com a administração combinada de amilina e leptina, havendo estudos que mostram que a tri-infusão de amilina, leptina e CCK conduz a uma maior perda de peso, inibição da ingesta e redução na massa gorda, comparativamente ao tratamento combinado de amilina e leptina;
- Exendina-4 (agonista do receptor GLP-1 (*glucagon like peptide 1*))
 - A coadministração de leptina e exendina-4 restaurou a resposta à leptina em ratos com obesidade induzida pela dieta;
- Clusterina – Ligando para LRP2 (*LDL receptor-related protein-2*)
 - A coadministração com leptina potenciou o efeito anorexigénico da leptina e aumentou a activação hipotalâmica de STAT3.

Posto isto, podemos inferir que os efeitos do co-tratamento de leptina combinada com outras hormonas no balanço energético advêm da activação sinérgica das diversas vias de sinalização activadas. Assim, a administração de leptina com *cocktails* hormonais mostra resultados promissores na melhoria da sensibilização à leptina e reverter a resistência à leptina através de múltiplas terapêuticas parece poder ser possível no futuro.

6.2.2. Novos agonistas para o receptor de leptina³

A leptina é uma hormona pouco estável *in vivo* e tem uma semivida curta. Por esse motivo, derivados estabilizados ou outros agonistas sintéticos do receptor ObR podem ser uma ajuda eficaz para activar o receptor, quando o ligando natural se torna ineficaz.

O fragmento sintético de leptina OBGRP-22 reduziu a ingesta alimentar quando administrado no ventrículo lateral de ratos.

Além deste fragmento, foram também desenvolvidas moléculas conjugadas capazes de melhorar o transporte através da barreira hematoencefálica, criadas com um péptido vetor, ligadas à leptina, que melhoraram o seu transporte através da barreira.

Outras moléculas sintetizadas foram OB-3 e análogos, que atravessam eficientemente a barreira hematoencefálica e que aumentam a sua biodisponibilidade no SNC, comparativamente à leptina natural. Além de regularem o balanço energético, estas moléculas também normalizam a glicémia e a sensibilidade à insulina, em ratos.

Também se tentaram identificar pequenas moléculas ou péptidos que modulem a activação do ObR. Foram identificados dois tipos de moléculas: as que potenciam o efeito/aumentam a sensibilidade à leptina e as que ativam o ObR na ausência de leptina.

Em resumo, derivados de fragmentos de leptina e pequenas moléculas que tenham o ObR como alvo, podem constituir ferramentas promissoras para melhorar a sua activação, quando a leptina *per se* já não o faz de modo eficaz. Essas moléculas podem melhor penetrar a barreira hematoencefálica ou ativar de maneira alostérica o ObR.

6.2.3. Alívio da inibição da sinalização do receptor da leptina³

Vários estudos mostram que algumas moléculas reguladoras negativas da sinalização da leptina podem estar envolvidas na resistência à leptina. As moléculas mais estudadas envolvidas neste processo são o SOCS3 (*suppressor of cytokine signaling 3*) e o PTP1B (*phospho-tyrosine protein phosphatase*),

Quanto ao SOCS3, cuja expressão é induzida pela activação da via JAK2/STAT3, constitui um mecanismo de *feedback* negativo na sinalização da leptina. O SOCS3 liga-se à tirosina 985 do ObRb e inibe a fosforilação do receptor, induzida pela leptina, que é indispensável para que o processo de sinalização siga a jusante. Além disso, liga-se também à JAK2 e inibe a sua fosforilação e subsequente activação. Por estes motivos, a actividade desta molécula está associada ao desenvolvimento de resistência à leptina.

Em relação ao PTP1B, esta molécula é uma tirosina fosfatase, que se liga e desfosforila a JAK2, inibindo a sinalização de leptina a jusante.

Assim, a diminuição da actividade destas duas moléculas parece ser um modo promissor de restaurar a resposta à leptina em indivíduos obesos. Nesse sentido, várias farmacêuticas estão a tentar desenvolver inibidores do PTP1B, entre os quais se encontra a trodusquemina (inibidor selectivo e alostérico do PTP1B), que reduz a ingesta alimentar, a massa gorda e o peso corporal, em ratos com obesidade induzida pela dieta. Este composto atravessa a barreira hematoencefálica e aumenta a fosforilação do receptor de insulina, induzida pela insulina, e do STAT3. A trodusquemina e oligonucleótidos *antisense* estão atualmente a ser estudados em ensaios clínicos de fase II como um potencial tratamento para a obesidade e para a diabetes. O SOCS3 ainda não tem inibidores conhecidos, mas pensa-se que a prevenção da interacção entre o SOCS3 e o ObR pode ser uma estratégia válida.

6.2.4. Aumentar a quantidade de receptores de superfície acessíveis à leptina³

O receptor ObR encontra-se maioritariamente no citoplasma das células, e não à superfície dos neurónios hipotalâmicos, dado que apenas 5-25% de ObR é expresso à superfície.

O receptor localizado à superfície é internalizado de maneira constitutiva, o que envolve vários sinais localizados no terminal citoplasmático do ObR, nomeadamente dois resíduos de lisina, que são fundamentais para que o processo de endocitose ocorra.

Esta internalização constitutiva, a retenção intracelular e a sua baixa taxa de reciclagem, resultam em níveis de expressão de ObR muito baixos, à superfície da célula, o que é um factor de extrema importância para a sensibilidade à leptina.

A interacção do ObR com as proteínas reguladoras do trânsito celular condiciona o seu transporte intracelular e, por conseguinte, a sua expressão à superfície e a capacidade de ligação à leptina. A isoforma OrBb interage com a nexina1, nexina4 e com a nexina6, desconhecendo-se a importância destas interacções. Recentemente, um estudo identificou que a ubiquitina ligase RNF41 controla o trânsito do ObR entre outros receptores citocina (através da interacção com o OBR e com a desubiquitinase USP8) e aumenta a reciclagem do ObR para a membrana plasmática, em vez de através da via lisossómica. Por outro lado, a clusterina e LRP2 aumentam a endocitose do OBR e da leptina, necessários para a activação hipotalâmica de STAT3. A proteína endospanina 1,

codificada pelo gene *DB*, por *splicing* alternativo, regula a expressão à superfície de ObR, por reter uma quantidade significativa de receptor nos compartimentos intracelulares. Através do *knock-down* da endospanina 1, conseguiu-se um aumento de duas vezes na expressão à superfície de ObR, o que foi suficiente para aumentar significativamente a fosforilação *in vitro* e *in vivo* da STAT3 induzida por leptina, no ARC do hipotálamo e foi eficiente na prevenção e reversão do desenvolvimento de obesidade, em ratos alimentados com uma dieta rica em gorduras. Isto sugere que mobilizar ObR de reservas intracelulares consegue modular a sensibilidade dos neurónios à leptina, o que leva a uma nova estratégia terapêutica que actue neste sentido. De facto, foram identificados novos pequenos compostos moleculares que são capazes de aumentar a expressão de ObR à superfície da célula, pensando-se que através da modificação da redistribuição de ObR (como a endospanina 1 ou RNF41), sem que afecte a neossíntese de ObR ou a sua degradação. Assim, conseguir-se-á diminuir a internalização de receptor, aumentar a reciclagem e potenciar o transporte para a superfície da célula. Além disso, os compostos identificados conseguem aumentar a capacidade de sinalização da leptina, por aumentarem a activação da via STAT3 induzida pela leptina. Cabe agora testar a eficácia destas moléculas no contexto da resistência à leptina e no tratamento da obesidade.

6.2.5. Aumentar o transporte através da barreira hemato-encefálica³

A barreira hematoencefálica, formada ao nível do endotélio por *tight junctions*, é o principal local de troca entre a periferia e o SNC, enquanto a barreira entre o sangue e o líquido cefalorraquidiano se encontra nos plexos coróides do terceiro, quarto e dos ventrículos laterais do cérebro. Para alcançar os receptores ObR no cérebro, a leptina é transportada através da BHE através de um sistema de transporte específico, saturável e unidirecional. Supõe-se que este sistema esteja localizado no endotélio de microvasos cerebrais e/ou no epitélio do plexo coroide. Este plexo é responsável pela produção do LCR e também está envolvido no transporte de muitas hormonas peptídicas, como a insulina. A libertação de leptina do plexo coroide para o LCR deveria ser mediada pela transcitose de um transportador.

Um estudo recente identificou o potencial transportador de leptina no epitélio do plexo coroide, como sendo o LRP2 (também conhecido como *megalín*), que captura a leptina circulante e a transporta para o cérebro.

Ratos com obesidade induzida pela dieta têm a capacidade de responder à leptina administrada centralmente, diminuindo a ingestão de alimentos, mas isso não se verifica

com leptina administrada perifericamente. Isso aponta para que a resistência à leptina possa estar associada a um defeito no transporte de leptina através da BHE. Este defeito no transporte de leptina também foi observado em doentes obesos, nos quais a relação LCR/leptina sérica é quatro vezes menor em comparação com pacientes magros.

Para explicar os mecanismos por detrás desta anomalia, investigadores sugeriram que os ácidos gordos poli-insaturados induzem resistência periférica à leptina através de um aumento na expressão da ocludina hipotalâmica (proteína fundamental nas *tight junctions*), reduzindo o transporte paracelular da leptina para o cérebro. Foi também sugerida uma possível expressão alterada dos transportadores ObRa e ObRc na BHE e no plexo coróide, mas este aspecto é bastante controverso.

Finalmente, vários estudos sugeriram que o defeito do transporte de leptina em ratos obesos se deve à diminuição da capacidade do transportador se ligar e transportar a leptina para o cérebro, não se devendo apenas à saturação do transportador pela hiperleptinémia.

Recentemente, um novo caminho para o transporte de leptina para o hipotálamo foi descoberto. Acredita-se que os órgãos circunventriculares, como a eminência mediana (EM), que não possuem uma BHE típica, permitem a livre difusão de moléculas e péptidos através dos seus capilares fenestrados. No caso particular do ARC, os neurónios que expressam ObR estão muito próximos destes capilares fenestrados na base do hipotálamo. Os tanicitos são células endoteliais de contacto entre o terceiro ventrículo e a EM e que se estendem desde a superfície endotelial desse ventrículo até aos vasos fenestrados na superfície pial do cérebro. Assim, ao nível da EM, a leptina plasmática é primeiramente absorvida pelos pés dos tanicitos, é transportada até ao seu domínio apical, antes de ser libertada no LCR e tendo como alvo os neurónios do hipotálamo mesobasal. Curiosamente, a libertação de leptina no LCR depende da activação da sinalização da via ERK, uma via alterada em ratos com obesidade induzida pela dieta. O restabelecimento da sinalização ERK e a libertação de leptina no líquido cefalorraquidiano é capaz de recuperar a activação STAT3 hipotalâmica induzida pela leptina e acelerar a perda de peso nesses ratos resistentes à leptina.

Quanto a potenciais fármacos para actuar nesta questão, o ideal seria aumentar a entrada e captação de leptina pelo cérebro, de maneira selectiva, através da BHE e sem perturbar a integridade geral da barreira. As estratégias que favorecem a passagem da leptina para o cérebro incluem a concepção de análogos da leptina ou novos agonistas do ObR mais permeáveis à BHE.

Várias estratégias têm sido usadas para melhorar a semivida, a potência, a solubilidade e a permeabilidade da leptina circulante. A leptina modificada com PEG, mesmo com um aumento da semivida, é incapaz de atravessar a BHE e não tem efeito sobre o peso corporal de humanos obesos. Pelo contrário, outras modificações da leptina mostraram-se relevantes como estratégias terapêuticas para a obesidade: de facto, a leptina portadora de uma porção carbo-hidratada e a leptina modificada com transactivador activo transcricional (TAT) ou com Pluronic® aumentaram o transporte para o cérebro e a perda de peso em ratos. Em relação à libertação de leptina dependente de ERK no terceiro ventrículo, pelos tanicitos, um potencial tratamento farmacológico que reactivasse a sinalização de ERK em tanicitos alterados teria um potencial terapêutico promissor contra a resistência à leptina, causada por um transporte central diminuído de leptina.

Até aos dias de hoje, os mecanismos pelos quais o cérebro capta a leptina permanecem pouco claros. Estudos recentes trouxeram novos conhecimentos sobre a natureza molecular e celular do sistema de transporte, subjacente à importância da LRP2 e dos tanicitos. Estas descobertas mostram a necessidade de investigação futura sobre este aspecto.

6.2.6. Diminuir o *stress* do retículo endoplasmático com chaperones químicas³

O retículo endoplasmático (RE) é um organelo importante que regula a síntese, o enovelamento, a maturação, o controlo de qualidade e o transporte de proteínas. A alteração da função adequada do RE desencadeia um estado de *stress* e leva à activação de uma “resposta proteica desdobrada” (RPU), a fim de adaptar o aparelho secretor e a fisiologia celular em resposta ao *stress*. A sinalização RPU tem um papel protetor, aumentando a expressão de proteínas envolvidas no mecanismo de enovelamento; aumentando a taxa de pregueamento de proteínas e diminuindo a tradução global de proteínas para atenuação da carga de RE. Proteínas com defeitos no enovelamento são então direccionadas para a degradação pelo proteossoma. No entanto, a sinalização RPU persistente e prolongada provocaria a morte celular. A sinalização RPU é mediada por três proteínas transmembranares principais, IRE1 (*inositol-requiring protein-1*), PERK (*protein kinase RNA-like ER kinase*) e ATF6 (*activating transcription factor-6*).

Stress persistente do RE e a sinalização RPU foram implicados em várias doenças, incluindo distúrbios metabólicos, como obesidade e diabetes *mellitus* tipo 2. Foi

mostrado que o colesterol e ácidos gordos livres podem induzir *stress* no RE. A ATF6 parece estar envolvida na regulação do metabolismo da glicose no fígado e pâncreas. A via PERK tem um papel importante na função das células β -pancreáticas, uma vez que ratos com PERK-*null* ou ratos com deleção pancreática específica da PERK desenvolvem hiperglicémia com a perda de ilhéus pancreáticos. Estudos recentes demonstraram que o *stress* do RE está envolvido no desenvolvimento da resistência à leptina. O *stress* por ação farmacológica induz a supressão da sinalização da leptina no hipotálamo e aumenta a ingestão de alimentos e o peso corporal em ratos. A deleção neuronal de XBP1, um factor de transcrição regulado por IRE1, desencadeia o *stress* hipotalâmico do RE e a resistência à leptina associada ao ganho de peso na dieta hiperlipídica. O *stress* do RE no cérebro também contribui para a resistência central à insulina, juntamente com a resistência à leptina.

As chaperones químicas constituem um tratamento terapêutico promissor contra a resistência à leptina para ressensibilizar as células à leptina. São compostos moleculares pequenos que estabilizam o enrolamento das proteínas e ajudam a diminuir a agregação anormal de proteínas e reduzir o *stress* do retículo. O 4-fenilbutirato (4-PBA) e o ácido tauroursodesoxicólico (TUDCA) são as chaperones químicas mais conhecidos com a aprovação da FDA. O tratamento com 4-PBA e TUDCA alivia com sucesso o *stress* hipotalâmico e restaura a resposta à leptina em ratos alimentados com dieta rica em gordura, reduzindo o consumo de alimentos juntamente com o peso corporal. A fluvoxamina, um inibidor selectivo de recaptção de serotonina prescrito para o tratamento da depressão, que se liga ao receptor do RE, Sigma1, é capaz de aliviar o *stress* e reverter a resistência à leptina nas células e diminuir a ingestão de alimentos em ratos. Recentemente, demonstrou-se que o flurbiprofeno, um anti-inflamatório não esteroide (AINE), reduz o *stress* do RE, atenua a resistência à leptina e reduz o peso corporal de ratos obesos. Os autores desse estudo sugeriram que o flurbiprofeno reduz a agregação da aldeído desidrogenase, levando à redução do *stress* do RE e da resistência à leptina.

As chaperones químicas deram resultados encorajadores, quando administradas para o tratamento da obesidade humana e diabetes. Demonstrou-se que o 4-PBA e o TUDCA melhoram a sinalização da insulina e a homeostase da glicose em indivíduos obesos humanos, caracterizados pela resistência à insulina, e melhoram a sensibilidade à insulina em indivíduos obesos. Estas observações em humanos sugerem que aliviar o *stress* do retículo endoplasmático constitui uma potencial estratégia terapêutica para doenças metabólicas como obesidade e DM2.

6.2.7. Para outro tipo de doenças³

Como foi referido anteriormente, a leptina também exerce efeitos directos sobre órgãos periféricos e regula uma ampla gama de funções, incluindo imunidade, funções neuroendócrinas, formação óssea, reprodução e angiogénese. Dado o envolvimento da leptina em diversas funções biológicas, a resistência à leptina e a obesidade estão frequentemente associadas a outras doenças, como a autoimunidade, alguns tipos de tumores, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas. Como foi anteriormente referido, várias evidências sugerem que a leptina tem um papel neuroprotector, que pode prevenir a morte neuronal em várias situações neurodegenerativas, como na doença de Parkinson, doença de Alzheimer e em alguns modelos relacionados com a epilepsia. A leptina também pode modular a plasticidade sináptica envolvida na formação da memória: modelos de rato tratados com leptina exógena mostram melhor memória. Um estudo recente enfatiza um papel ativo da sinalização da leptina em astrócitos para a regulação da plasticidade sináptica e da alimentação. Além disso, as células da glia desempenham um papel central na protecção contra a neuro-inflamação, envolvida em situações neurodegenerativas. Neste contexto, novos agonistas para o ObR ou moléculas sensibilizantes seriam promissoras ferramentas terapêuticas para doenças neurodegenerativas.

Por outro lado, dado que pode haver indícios de que a leptina promove a autoimunidade, o crescimento e a migração de células cancerígenas, a identificação de novos antagonistas de ObR poderia ser de interesse no campo das doenças autoimunes e da terapia do cancro. Por exemplo, novas descobertas mantêm subjacente a importância da interação de proteínas ou lipídios para a sinalização ObR.

A longo prazo, a descoberta de novos fármacos contra a resistência à leptina, atuando a múltiplos níveis, deve ser incluída num contexto terapêutico onde o tratamento combinado associado a outras terapias hormonais deve ajudar a diminuir a ingestão de alimentos e aumentar o gasto de energia e reversão estável da obesidade com riscos limitados.

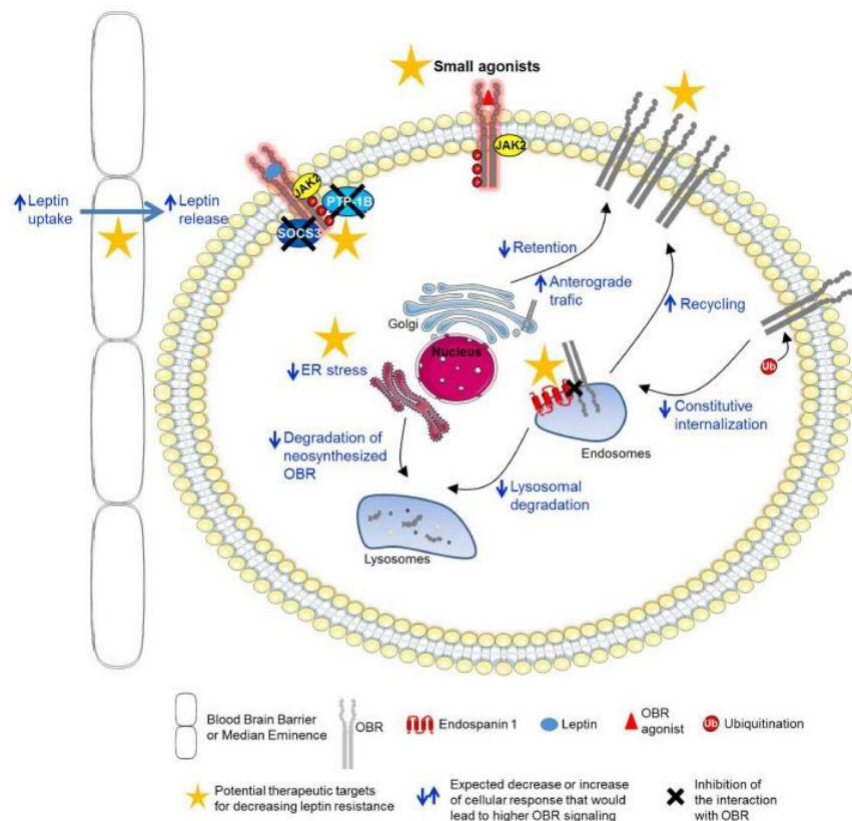


Figura 5 - Potenciais alvos terapêuticos para a prevenção ou reversão de resistência à leptina

7. CONCLUSÃO

Com a realização deste trabalho, demonstrou-se que a leptina possui funções endócrinas variadas. Ela desempenha um papel central naquilo que é a regulação do centro hipotalâmico do apetite, tendo um forte efeito anorexigénico e potenciador da actividade física, tendo em vista a perda de calorías. No entanto, na esmagadora maioria dos indivíduos obesos, aquilo que se verifica é um estado de hiperleptinémia, como seria expectável devido à maior presença de tecido adiposo, sem que a esse estado corresponda uma maior ação e maiores efeitos da própria leptina, o que revela resistência a este péptido.

Neste contexto, actualmente procura identificar-se qual ou quais são os mecanismos mais preponderantes no desenvolvimento desta resistência. Não apenas por mera curiosidade científica, mas sim porque se pensa que, após se identificarem estes mecanismos, se estará mais perto de conseguir atuar farmacologicamente nessa via e, dessa forma, potenciar uma cura para a obesidade. Nesta fase da investigação, estamos mais perto de encontrar agentes sensibilizantes à ação da leptina e de encontrar novos agonistas do seu receptor; sendo aqui que reside a principal esperança neste tratamento.

Além desta função, no metabolismo energético, mais conhecida e debatida, a leptina desempenha também um importante papel a nível imunológico, especialmente no que toca aos linfócitos T, cuja ação se torna menos eficaz, no decurso de hipoleptinémia na sequência de longos períodos de fome, o que resulta no comprometimento da imunidade mediada por essas células.

Quanto ao sistema endócrino, são aqui maiores as implicações que a leptina possui; condicionando alterações reprodutivas, tiroideias, ósseas, nas supra-renais e em patologias diversas do Sistema Nervoso Central, tais como a depressão, a doença de Parkinson, a demência de Alzheimer e os acidentes vasculares cerebrais. Por fim, é ainda de realçar o efeito pouco claro que esta possui na metastização e progressão de certos tipos de tumores, nomeadamente o ovárico, sendo também necessário esclarecer se as alterações que ocorrem em redor da leptina na patologia tumoral são consequência de cada tumor ou se são um factor que promove a sua proliferação.

Posto isto, fica claro que a leptina é uma molécula central na fisiopatologia da obesidade, com um enorme potencial na descoberta de uma possível terapêutica médica para esse estado de obesidade. No entanto, é importante referir que a investigação nesse sentido está ainda a dar os primeiros passos e que é necessário maior investimento e

despender mais recursos para que se possam prosseguir os estudos na descoberta do mecanismo central para o desenvolvimento de resistência à leptina e, posteriormente, na conceção de uma terapêutica que atue nessa via. Se se conseguir levar a bom-porto esta investigação, é também possível que outros estados patológicos possam ser revertidos, na medida em que, como foi abordado ao longo deste trabalho, a leptina tem influência numa miríade de outros sistemas de órgãos.

8. BIBLIOGRAFIA

1. Yiyang Zhang, Ricardo Proenca, Margherita Maffei, Marisa Barone, Lori Leopold JMF. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*. 1994;372:425-432. doi:<https://doi.org/10.1038/372425a0>.
2. Nida Fakhar MW. Carrier Frequency of Congenital Leptin Deficiency in Central Punjab Region of Pakistan. *J Obes Weight Loss Ther*. 2015;05(02). doi:10.4172/2165-7904.1000260
3. Roujeau C, Jockers R, Dam J. New pharmacological perspectives for the leptin receptor in the treatment of obesity. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2014;5(SEP):1-13. doi:10.3389/fendo.2014.00167
4. Zhou Y, Rui L. Leptin signaling and leptin resistance. 2014;7(2):207-222. doi:10.1007/s11684-013-0263-5.Leptin
5. Vasselli J, Scarpace P, Harris R, Banks W. Dietary Components in the Development of Leptin Resistance. *Adv Nutr*. 2013;4(2):164-175. doi:10.3945/an.112.003152.164
6. Meier U, Gressner AM. Endocrine regulation of energy metabolism: Review of pathobiochemical and clinical chemical aspects of leptin, ghrelin, adiponectin, and resistin. *Clin Chem*. 2004;50(9):1511-1525. doi:10.1373/clinchem.2004.032482
7. Veniant MM, LeBel CP. Leptin: From Animals to Humans. *Curr Pharm Des*. 2003;9(10). doi:10.2174/1381612033455369
8. Wańkowska M, Lerrant Y, Wójcik-Gładysz A, Starzec A, Counis R, Polkowska J. Intracerebroventricular infusion of neuropeptide Y up-regulates synthesis and accumulation of luteinizing hormone but not follicle stimulating hormone in the pituitary cells of prepubertal female lambs. *J Chem Neuroanat*. 2002;23(2):133-142. doi:[https://doi.org/10.1016/S0891-0618\(01\)00152-1](https://doi.org/10.1016/S0891-0618(01)00152-1)
9. Frayn KN, Karpe F, Fielding BA, Macdonald IA, Coppack SW. Integrative physiology of human adipose tissue. *Int J Obes*. 2003;27(8):875-888. doi:10.1038/sj.ijo.0802326
10. French S, Castiglione K. Recent advances in the physiology of eating. *Proc Nutr*

Soc. 2002;61(4):489-496. doi:10.1079/pns2002190

11. Oral EA, Simha V, Ruiz E, et al. Leptin-Replacement Therapy for Lipodystrophy. *N Engl J Med.* 2002;346(8):570-578.
doi:10.1056/NEJMoa012437
12. Banks WA, Bjørbæk C, Flier JS, et al. Characterization of Short Isoforms of the Leptin Receptor in Rat Cerebral Microvessels and of Brain Uptake of Leptin in Mouse Models of Obesity. *Endocrinology.* 2014;143(3):775-783.
doi:10.1210/endo.143.3.8669
13. Harmelen V Van, Reynisdottir S, Eriksson P, et al. Leptin secretion from subcutaneous and visceral adipose tissue in women. *Diabetes.* 1998;47(6):913-917.
14. Sarr O, Strohm RJ, Macdonald TL, et al. Subcutaneous and visceral adipose tissue secretions from extremely obese men and women both acutely suppress muscle insulin signaling. *Int J Mol Sci.* 2017;18(5):1-7.
doi:10.3390/ijms18050959
15. Sinha MK, Ohannesian JP, Heiman ML, et al. Nocturnal Rise of Leptin in Lean , Obese , and Non – Insulin-dependent Diabetes. *Society.* 1996;97(5):1344-1347.
16. Krizova J, Papezova H, Haluzikova D, et al. Soluble leptin receptor levels in patients with anorexia nervosa. *Endocr Res.* 2002;28(3):199-205.
doi:10.1081/ERC-120015058
17. Rosická M, Kršek M, Matoulek M, et al. Serum ghrelin levels in obese patients: The relationship to serum leptin levels and soluble leptin receptors levels. *Physiol Res.* 2003;52(1):61-66.
18. Radić R, Nikolić V, Karner I, et al. Circadian rhythm of blood leptin level in obese and non-obese people. *Coll Antropol.* 2003;27(2):555-561.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14746143>.
19. Kurrimbux D, Gaffen Z, Farrell CL, Martin D, Thomas SA. The involvement of the blood–brain and the blood–cerebrospinal fluid barriers in the distribution of leptin into and out of the rat brain. *Neuroscience.* 2004;123(2):527-536.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2003.08.061>

20. Sandhofer A, Laimer M, Ebenbichler CF, Kaser S, Paulweber B, Patsch JR. Soluble leptin receptor and soluble receptor-bound fraction of leptin in the metabolic syndrome. *Obes Res.* 2003;11(6):760-768. doi:10.1038/oby.2003.106
21. Schulze PC, Linke A, Schoene N, et al. Elevated serum levels of leptin and soluble leptin receptor in patients with advanced chronic heart failure. *Eur J Heart Fail.* 2003;5(1):33-40.
22. Otte C, Otte J-M, Strodthoff D, et al. Expression of Leptin and Leptin Receptor During the Development of Liver Fibrosis and Cirrhosis. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2004;112(1):10-17. doi:10.1055/s-2004-815720
23. Hajri T, Tao H, Wattacheril J, Marks-Shulman P, Abumrad NN. Regulation of adiponectin production by insulin: interactions with tumor necrosis factor- α and interleukin-6. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2011;300(2):E350-E360.
24. Berg AH, Combs TP, Du X, Brownlee M, Scherer PE. The adipocyte-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. *Nat Med.* 2001;7:947-953. doi:https://doi.org/10.1038/90992
25. Tomas E, Tsao T-S, Saha AK, et al. Enhanced muscle fat oxidation and glucose transport by ACRP30 globular domain: Acetyl-CoA carboxylase inhibition and AMP-activated protein kinase activation. *Proc Natl Acad Sci.* 2002;99(25):16309-16313. doi:10.1073/pnas.222657499
26. Yamauchi T, Kamon J, Waki H, et al. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipodystrophy and obesity. *Nat Med.* 2001;7:941-946. doi:https://doi.org/10.1038/90984
27. Saltiel AR. You are what you secrete. *Nat Med.* 2001;7:887-888.
28. Stumvoll M. Thiazolidinediones – some recent developments. *Expert Opin Investig Drugs.* 2003;12(7):1179-1187. doi:https://doi.org/10.1517/13543784.12.7.1179
29. Matsuda M, Shimomura I, Sata M, et al. Role of Adiponectin in Preventing Vascular Stenosis. *J Biol Chem.* 2002;277(40):37487-37491. doi:10.1074/jbc.m206083200
30. Hotta K, Funahashi T, Arita Y, et al. Plasma Concentrations of a Novel, Adipose-

- Specific Protein, Adiponectin, in Type 2 Diabetic Patients. *Arter Thromb Vasc Biol.* 2000;20:1595-1599. doi:10.1161/01.ATV.20.6.1595
31. Shuldiner AR, Yang R, Gong D-W. Resistin, Obesity, and Insulin Resistance — The Emerging Role of the Adipocyte as an Endocrine Organ. *N Engl J Med.* 2001;345:1345-1346. doi:10.1056/NEJM200111013451814
 32. Youn BS, Yu KY, Park HJ, et al. Plasma Resistin Concentrations Measured by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Using a Newly Developed Monoclonal Antibody Are Elevated in Individuals with Type 2 Diabetes Mellitus. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(1):150-156. doi:10.1210/jc.2003-031121
 33. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature.* 1999;402:656-660. doi:https://doi.org/10.1038/45230
 34. Gualillo O, Lago F, Gómez-Reino J, Casanueva FF, Dieguez C. Ghrelin, a widespread hormone: Insights into molecular and cellular regulation of its expression and mechanism of action. *FEBS Lett.* 2003;552(2-3):105-109. doi:10.1016/S0014-5793(03)00965-7
 35. Misra M, Miller KK, Herzog DB, et al. Growth hormone and ghrelin responses to an oral glucose load in adolescent girls with anorexia nervosa and controls. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(4):1605-1612. doi:10.1210/jc.2003-031861
 36. Whatmore AJ, Hall CM, Jones J, Westwood M, Clayton PE. Ghrelin concentrations in healthy children and adolescents. *Clin Endocrinol.* 2003;59(5):649-654.
 37. Ukkola O. Endocrinological activities of ghrelin: new insights. *Eur J Intern Med.* 2003;14(6):351-356. doi:https://doi.org/10.1016/S0953-6205(03)90000-8
 38. Chan JL, Matarese G, Shetty GK, et al. Differential regulation of metabolic, neuroendocrine, and immune function by leptin in humans. *Proc Natl Acad Sci.* 2006;103(22):8481-8486. doi:10.1073/pnas.0505429103
 39. Moschos S, Chan JL, Mantzoros CS. Leptin and reproduction: a review. *Fertil Steril.* 2002;77(3). doi:10.1016/S0015-0282(01)03010-2
 40. Zimmermann-Belsing T, Brabant G, Holst JJ, Feldt-Rasmussen U. Circulating

- leptin and thyroid dysfunction. *Eur J Endocrinol*. 2003;149(4):257-271.
doi:10.1530/eje.0.1490257
41. Flier JS, Harris M, Hollenberg AN. Leptin, nutrition, and the thyroid: The why, the wherefore, and the wiring. *J Clin Invest*. 2000;105(7):859-861.
doi:10.1172/JCI9725
 42. Yamagata S, Kageyama K, Akimoto K, Watanuki Y, Suda T, Daimon M. Regulation of corticotropin-releasing factor and urocortin 2/3 mRNA by leptin in hypothalamic N39 cells. *Peptides*. 2013;50:1-7.
doi:https://doi.org/10.1016/j.peptides.2013.09.010
 43. Aschbacher K, Rodriguez-Fernandez M, van Wietmarschen H, et al. The hypothalamic- pituitary -adrenal -leptin axis and metabolic health: A systems approach to resilience, robustness and control. *Interface Focus*. 2014;4(5).
doi:10.1098/rsfs.2014.0020
 44. Arvaniti K, Huang Q, Richard D. Effects of Leptin and Corticosterone on the Expression of Corticotropin-Releasing Hormone, Agouti-Related Protein, and Proopiomelanocortin in the Brain of ob/ob Mouse. *Neuroendocrinology*. 2001;73(4):227-236. doi:10.1159/000054639
 45. Bernotiene E, Palmer G, Gabay C. The role of leptin in innate and adaptive immune responses. *Arthritis Res Ther*. 2006;8(5):1-10. doi:10.1186/ar2004
 46. Naylor C. Leptin Regulation of Immune Responses. *Trends Mol Med*. 2016;22(2):88-98. doi:https://doi.org/10.1016/j.molmed.2015.12.001
 47. Eleftheriou F, Takeda S, Ebihara K, et al. Serum leptin level is a regulator of bone mass. *Proc Natl Acad Sci*. 2004;101(9):3258-3263.
doi:10.1073/pnas.0308744101
 48. Upadhyay J, Farr OM, Mantzoros CS. The role of leptin in regulating bone metabolism. *Metabolism*. 2015;64(1):105-113.
doi:10.1016/j.metabol.2014.10.021
 49. Li XM, Yan HJ, Guo YS, Wang D. The role of leptin in central nervous system diseases. *Neuroreport*. 2016;27(5):350-355.
doi:10.1097/WNR.0000000000000546

50. Lin T-C, Huang K-W, Liu C-W, et al. Leptin signaling axis specifically associates with clinical prognosis and is multifunctional in regulating cancer progression. *Oncotarget*. 2018;9(24):17210-17219. doi:10.18632/oncotarget.24966
51. Y Zhang, L Liu, C Li, H Ai. Correlation analysis between the expressions of leptin and its receptor (ObR) and clinicopathology in endometrial cancer. *Cancer Biomarkers*. 2014;14(5):353-359. doi:10.3233/CBM-140415
52. Kumar J, Fang H, McCulloch DR, Crowley T, Ward AC. Leptin receptor signaling via Janus kinase 2/Signal transducer and activator of transcription 3 impacts on ovarian cancer cell phenotypes. *Oncotarget*. 2017;8(55):93530-93540. doi:10.18632/oncotarget.19873
53. Xiao Wei, Yi Liu, Cheng Gong, Teng Ji, Xiaoshui Zhou, Taoran Zhang, Dongyi Wan, Sen Xu, Ping Jin, Xin Yang, Xiaoting Li, Ding Ma, Zongyuan Yang* QG. Targeting Leptin as a Therapeutic Strategy against Ovarian Cancer Peritoneal Metastasis. *Anticancer Agents Med Chem*. 2017;17(8):1093-1101. doi:10.2174/1871520616666161221114454
54. Diker-Cohen T, Cochran E, Gorden P, Brown RJ. Partial and generalized lipodystrophy: Comparison of baseline characteristics and response to metreleptin. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100(5):1802-1810. doi:10.1210/jc.2014-4491
55. Farooqi IS, Depaoli AM, Rahilly SO, et al. Beneficial effects of leptin on obesity, T cell hyporesponsiveness, and neuroendocrine/metabolic dysfunction of human congenital leptin deficiency. *J Clin Invest*. 2002;110(8):1093-1103. doi:10.1172/JCI200215693.Introduction
56. Frank S, Heni M, Moss A, et al. Leptin therapy in a congenital leptin-deficient patient leads to acute and long-term changes in homeostatic, reward, and food-related brain areas. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(8):1283-1287. doi:10.1210/jc.2010-2713
57. Licinio J, Caglayan S, Ozata M, et al. Phenotypic effects of leptin replacement on morbid obesity, diabetes mellitus, hypogonadism, and behavior in leptin-deficient adults. *Proc Natl Acad Sci*. 2004;101(13):4531-4536.

doi:10.1073/pnas.0308767101